

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Калининградский государственный технический университет»

Е. С. ЗЕМЛЯКОВА

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ И КОМПОЗИЦИИ
ИЗ СЫРЬЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Учебно-методическое пособие по лабораторным работам
для студентов бакалавриата по направлению подготовки
19.03.01 «Биотехнология» (профиль подготовки – «Пищевая биотехнология»)

Часть 1

Калининград
Издательство ФГБОУ ВО «КГТУ»
2021

УДК 613.292

РЕЦЕНЗЕНТ

профессор, д-р техн. наук, зав. кафедрой пищевой биотехнологии
ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет»

О.Я. Мезенова

Землякова, Е. С. Биологически активные добавки и композиции из сырья растительного происхождения: учеб.-методич. пособие по лаб. работам для студ., обучающихся в бакалавриате по направлению подгот. 19.03.01 – Биотехнология: в 2 ч. / **Е. С. Землякова.** - Калининград: ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», 2021. – Ч. 1. – 138 с.

Учебно-методическое пособие содержит методические указания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Биологически активные добавки и композиции из сырья растительного происхождения». Лабораторные работы посвящены подбору сырья, его подготовке и составлению рецептур для изготовления биологически активных добавок (БАД) и биологически активных композиций (БАК); исследованию основных процессов получения биологически активных веществ из сырья растительного происхождения, а также методам определения показателей качества готовых форм БАД и БАК.

Учебно-методическое пособие рекомендуется студентам высших учебных заведений направления 19.03.01 «Биотехнология» (профиль «Пищевая биотехнология») и может быть использовано студентами, обучающимися по образовательным программам в области пищевых технологий.

Рис. 10, табл. 14, список лит. 26 наименований

УДК 613.292

© ФГБОУ ВО «Калининградский
государственный технический
университет», 2021 г.
©Землякова Е.С. , 2021 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Лабораторная работа № 1 Основы подбора сырья, его подготовки и составления рецептур для производства БАД и БАК.....	6
Лабораторная работа № 2 Исследование процесса экстракции БАВ из сырья растительного происхождения	44
Лабораторная работа № 3 Исследование процесса получения пектина	55
Лабораторная работа № 4 Количественное определение флавоноидов в растительных экстрактах	91
Лабораторная работа № 5 Исследование биологически активных веществ чая.....	103
Приложение	122
Список использованных источников	135

ВВЕДЕНИЕ

Настоящее учебно-методическое пособие предназначено для студентов бакалавриата по направлению подготовки 19.03.01 «Биотехнология» (профиль «Пищевая биотехнология»), выполняющих лабораторные работы по дисциплине «Биологически активные добавки и композиции из сырья растительного происхождения». Знания, приобретенные по данной дисциплине, являются базовыми при подготовке биотехнологов, ориентированных на профессиональную деятельность в пищевой промышленности.

В результате освоения знаний по представленному разделу дисциплины обучающийся должен:

- освоить основные принципы и методы получения БАД и БАК из биологического сырья; способы извлечения биологически активных веществ из сырья растительного происхождения; принципы сочетания биологически активных веществ в зависимости от химической природы и назначения БАД и БАК; критерии сбалансированности БАД и БАК в зависимости от функциональности и назначения; биотехнологический потенциал растительного сырья, направляемого на производство БАД и БАК;

- приобрести навыки разработки рациональных схем переработки растительного сырья и вторичных сырьевых ресурсов с получением БАД и БАК; технологий создания БАД и БАК с заданными свойствами из сырья растительного происхождения; рекомендаций по употреблению БАД и БАК;

- сформировать базовые знания, умения и навыки для успешного освоения технологий создания БАД и БАК с заданными свойствами из сырья растительного происхождения.

Представленные лабораторные работы являются важной частью дисциплины «Биологически активные добавки и композиции из сырья растительного происхождения». Их выполнение позволит обучающимся приобрести необходимые знания и навыки для практической деятельности при производстве БАД и БАК из сырья растительного происхождения, а также оценки их качества.

Результатами освоения дисциплины «Биологически активные добавки и композиции из сырья растительного происхождения» должны стать следующие профессиональные компетенции (ПК):

- способность использовать свойства функциональных технологических добавок в биотехнологии продуктов из сырья растительного происхождения в соответствии с регламентом;

- способность участвовать в составе авторского коллектива в разработке технологических проектов по изготовлению биологически активных добавок и композиций из сырья растительного происхождения;

- способность проектировать технологические процессы производства биологически активных добавок и композиций из сырья растительного происхождения с использованием автоматизированных систем технологической подготовки производства в составе авторского коллектива;

- способность проектировать биологически активные добавки и композиции из сырья растительного происхождения и определять их качество.

Результаты выполнения лабораторных работ заносятся студентами в рабочую тетрадь. Преподаватель проверяет усвоение студентами теоретического материала, знание методов анализа, оценивает уровень оформления работы и при его соответствии подписывает рабочую тетрадь. Лабораторные работы должны выполняться с соблюдением требований техники безопасности при работе в химической лаборатории.

ОСНОВЫ ПОДБОРА СЫРЬЯ, ЕГО ПОДГОТОВКИ И СОСТАВЛЕНИЯ РЕЦЕПТУР ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БАД И БАК

Цель занятия: формирование знаний и навыков работы со стандартами на лекарственное растительное сырьё (ЛРС), ознакомление с основами подбора сырья, его подготовки и составления рецептур для производства БАД и БАК.

Задание. Ознакомиться с материалом в теоретической части лабораторного практикума. Выполнить *Задание № 1-3*. Сделать вывод по результатам выполнения лабораторной работы.

1. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Перед началом лабораторной работы следует изучить лекционный материал по теме «Принципы разработки рецептур БАД и БАК и требования к их производству», а также теоретический (справочный) материал (с. 12) .

Из таблицы 2 выбрать задания в соответствии с полученным от преподавателя номером варианта.

Задание № 1. Руководствуясь соответствующей нормативной документацией, установите соответствие ЛРС требованиям соответствующего ГОСТа и статьям Государственной фармакопеи:

1. Листья мать-и-мачехи (цельные), крупные, округлые, имеют густое опушение на верхней стороне. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, с нижней - беловато-серый. Запах свойственный растению. Вкус слабо-горьковатый с ощущением слизистости. Влажность 8 %; зола общая - 23%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты - 9%; органические примеси - 2, 3%; минеральные примеси 1,5%. Наличие побуревших листьев –

8,5 %. Упакованы в бумажные пакеты по 15 кг. Обозначенный срок годности - 5 лет.

2. Листья мяты перечной размером до 10 мм с примесью цветков и бутонов. Край листа пильчатый с неравными острыми зубцами; поверхность голая. Цвет листьев от светло-зеленого до темно-зеленого. Запах отсутствует. Вкус горьковато-сладкий. Эфирное масло - 0,5 %; влажность - 13%; зола общая - 9%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты - 6,6%; почерневшие листья - 5,8 %; стебли - 8 %. Органические примеси - 3%; минеральные примеси - 1,6 %. Упакованы в мешки тканевые по 10 кг нетто. Обозначенный срок годности 24 мес.

3. Цветки ромашки частично осыпавшиеся, цветочные корзинки полушаровидной формы, с остатками цветоносов длиной 4 см. Размер корзинки (без язычковых цветков) 2-3 мм в поперечнике.

Цвет язычковых цветков желтый. Запах сильный, ароматный. Вкус пряный, горьковатый, слегка слизистый. Эфирное масло - 0,5%, влажность - 10%; зола общая - 11%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты - 3%; листья, стебли, корзинки с остатками цветоносов длиннее 3 см - 5%; корзинки побуревшие - 10%. Органические примеси - 3%; минеральные примеси - 0,5%. Упакованы в мешки тканевые по 5 кг нетто. Обозначенный срок годности 18 мес.

4. Корневища и корни девясила (целое сырье) цилиндрические длиной 2-20 см, толщиной 0,5-3 см, твердые, в изломе слабозернистые, с заметными буроватыми блестящими точечками - вместилища с эфирным маслом. Цвет снаружи серовато-бурый, на изломе - желтовато-белый или желтовато-серый. Запах ароматный. Вкус сладковато-медовый. Влажность - 11%; зола общая - 9%; дряблые корневища и корни - 6 %; корневища и корни, потемневшие в изломе - 3 %; куски корней длиной менее 2 см не более 10 %. Органические примеси 3%; минеральные примеси - 0,5%. Упакованы в мешки тканевые по 30 кг нетто.

5. Трава хвоща полевого измельченная проходит сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет серовато-зеленый. Запах слабый. Вкус слегка сладковатый. Влажность не более 12%; зола общая - 23%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты - 15%; другие части растения - 1,5%; частиц, не прошедших сито с отверстиями диаметром 7 мм – 25 %; частиц, прошедших сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, - 15%. Органические примеси 2%; минеральные примеси - 0,5%. Упакованы в мешки тканевые по 10 кг нетто. Обозначенный срок годности – 4 года.

6. Трава чабреца - смесь цельных или частично измельченных тонких веточек, листьев, кусочков стеблей. Листья короткочерешковые, голые с резко выступающими жилками на нижней стороне листа. Кусочки веточек тонкие, зеленовато-коричневого цвета, с фиолетовым оттенком. Цветки мелкие, одиночные. Венчик длиной 5-8 мм, тычинок 4, пестик с четырехраздельной верхней завязью. Цвет листьев - серовато-зеленый; чашечки - буровато-красный; венчика - синевато-фиолетовый. Запах ароматный. Вкус ярко жгучий. Влажность - 13%; зола общая - 11%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты - 4%; стебли толщиной более 0,5 мм - 5 %; органические примеси - 1%; минеральные примеси - 1%. Упакована в мешки тканевые по 15 кг нетто. Обозначенный срок годности - 2 года.

Порядок выполнения и оформления работы по заданию 1:

- Выписать условие задания.

- Ознакомиться с требованиями соответствующего стандарта и статьи Государственной фармакопеи, распространяющихся на ЛРС, указанное в задании, в части вопроса, касающегося его качества. Составить таблицу по указанной ниже табличной форме, вписать в нее необходимые сведения.

- Проанализировать данные таблицы и сделать вывод о стандартности (нестандартности) ЛРС.

Таблица 1 – Показатели качества ЛРС

Показатели	Характеристика и нормы по требованиям:		Характеристика показателей по условиям задания	Вывод о стандартности по каждому показателю
	ГОСТа <i>(№, название)</i>	статьи фармакопеи №		

Задание № 2

Письменно ответить на вопросы:

1. Какие вещества относятся к биологически активным?
2. Что такое шрапнельный эффект?
3. Какие вещества называют «действующими», какие «кажущимися неактивными»?
4. Фармакогнозия – что это?
5. Дайте определение «сопутствующим веществам».
6. Дайте определение «балластным веществам»
7. Возможен ли переход веществ из группы «кажущиеся неактивными» в группу «действующих веществ»? А наоборот?
8. Назовите три основные группы веществ, входящих в состав любого растения.
9. Какова доля неорганических веществ в сухом остатке растений? Как определяют это количество?
10. На чем основывается деление неорганических веществ растений на макро- и микроэлементы? Назовите представителей?
11. Перечислите примеры растений, в состав которых входят микроэлементы, проявляющие фармакологическую (фарм.) активность.
12. Назовите примеры использования золы ЛРС в научной медицине.
13. Все органические вещества лекарственных растений можно разделить на две большие группы. Какие?
14. Относятся ли вещества вторичного синтеза к БАВ?

15. Назовите функции веществ «кажущихся неактивными». Приведите примеры.
16. Какие виды экстракционных препаратов из ЛРС Вы знаете?
17. На примере травы сушеницы топяной раскройте значение совместного участия в фарм. эффекте различных групп БАВ.
18. Как влияют технологические приёмы извлечения БАВ на эффективность их действия? Приведите пример.
19. Приведите пример использования технологии последовательного извлечения БАВ.
20. Что такое обмен веществ?
21. Что такое первичный метаболизм?
22. Расшифруйте понятие «продукты вторичного метаболизма». Каковы их особенности?
23. Гликозилирование – что это? Что образуется в результате такой реакции.
24. Перечислите вещества первичного синтеза.
25. Белки и АК ЛРС
26. Перечислите сложные белки, входящие в состав ЛРС.
27. Липиды ЛРС
28. Нуклеиновые кислоты ЛРС
29. Ферменты ЛРС
30. Органические кислоты ЛРС. Приведите пример фарм. активных органических кислот ЛРС.
31. Витамины ЛРС.
32. Углеводы ЛРС.
33. Слизи и камеди ЛРС.
34. Перечислите, какие группы веществ относятся к веществам вторичного метаболизма?
35. Что такое диссимилиация?
36. Каковы особенности сбора коры лекарственных растений (ЛР)?
37. Каковы особенности сбора корней и корневищ ЛР?

38. Каковы особенности сбора листьев, травы, цветков ЛР?
39. Каковы особенности сбора плодов ЛР?
40. Каковы особенности сбора почек ЛР?
41. Каковы характерные особенности правильно высушенных частей ЛР?
42. Перечислите факторы, которые необходимо учитывать при разработке БАД в современных условиях.
43. Перечислите современные задачи создания новых БАД.
44. Обозначьте основные требования по количественному содержанию различных групп БАВ в БАД.
45. Каковы особенности производства, упаковывания и маркирования БАД?

Таблица 2 - Варианты заданий к лабораторной работе № 1

№ варианта	№№ заданий для		№ варианта	№№ заданий для	
	задания № 1	задания № 2		задания № 1	задания № 2
1	1, 6	3, 10, 22, 30, 45	9	2, 5	1, 16, 25, 22, 37
2	2, 5	4, 12, 29, 34, 44	10	4, 1	2, 10, 24, 36, 40
3	3, 4	5, 14, 28, 39, 43	11	3, 4	3, 11, 23, 35, 41
4	1, 2	6, 15, 27, 30, 42	12	2, 3	4, 12, 22, 34, 43
5	5, 1	1, 7, 15, 26, 41	13	1, 6	6, 13, 20, 33, 44
6	6, 2	8, 17, 25, 35, 40	14	3, 6	7, 14, 19, 32, 45
7	2, 1	4, 9, 24, 39, 42	15	4, 1	8, 15, 18, 26, 31
8	3, 4	3, 10, 23, 38, 44	16	6, 1	9, 16, 19, 28, 32

Задание № 3

С учетом рекомендуемых уровней потребления пищевых и биологически активных веществ, а также теоретических основ из части 3, оценить способность БАД «Сквален-Лецитин» нормализовать пищевой статус человека при его употреблении в количестве 5, 12, 18 и 25 г в сутки. Данные расчётов привести в виде таблицы 3, обосновать адекватное количество суточного потребления БАД «Сквален-Лецитин».

Таблица 3 - Состав физиологически функциональных ингредиентов БАД «Сквален-Лецитин»

№	Наименование физиологически функциональных ингредиентов	Суточная потребность по МР 2.3.1.19150-04	Количество ингредиента по рецептуре в составе БАД	Обеспечение суточной потребности, % от нормы				
				100 г	25 г	18 г	12 г	5 г
1	Сквален, мг	400	510	127				
Аминокислоты, г								
2	лейцин	4,6	4,30	93,5				
3	изолейцин	2,0	2,80	140				
4	валин	2,5	3,20	128				
5	лизин	4,1	4,70	115				
6	треонин	2,4	2,70	112				
7	метионин+цистин	1,8	3,20	178				
8	фенилаланин+тирозин	4,4	5,30	120				
9	гистидин	2,1	1,70	81				
10	аргинин	6,1	5,60	92				
11	серин	8,3	5,30	64				
12	Фосфолипиды, г	7	25,20	360				
Макроэлементы, мг:								
13	фосфор	800	520	65				
14	магний	400	260	65				
Микроэлементы, мг:								
15	медь	1	3	300				
16	железо	15	15,8	105				
17	марганец	2	4	200				
Витамины, мг:								
18	Е	15	12	80				

2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

2.1. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ – ИСТОЧНИКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

2.1.1 Терапевтическая ценность и химический состав лекарственных растений

Терапевтическая ценность лекарственных растений определяется входящими в их состав биологически активными веществами, к которым относятся все вещества, способные оказывать влияние на биологические процессы, протекающие в организме.

За долгую историю поисков и практического использования биологически активных веществ накопились сведения о биологической активности большого числа химических соединений с полностью или частично установленной структурой. Только фармакологическая активность, если судить по различным справочникам и фармакопеям, описана примерно для 12 000 различных соединений.

Любое из лекарственных растений представляет собой сложную лабораторию, в которой синтезируются одновременно сотни, если не тысячи, биологически активных веществ. Этим и объясняется так называемый шрапнельный эффект, т.е. эффект множественного воздействия на различные системы и органы, нередко возникающий в процессе лечения. Дополнительные исследования, казалось бы, вполне изученных и давно используемых лекарственных растений иногда позволяют выявить новый аспект их биологической активности.

В связи с разносторонним лечебным эффектом лекарственных растений в известной степени условным оказывается понятие так называемых *действующих веществ*, обозначающее наиболее выраженную физиологическую активность.

Вещества, кажущиеся неактивными, условно делятся на сопутствующие и балластные.

На сегодняшний день понятия "*сопутствующие*" и "*балластные*" вещества считаются устаревшими.

Сопутствующими веществами в фармакогнозии (одна из фармацевтических наук, изучающая лекарственные средства, получаемые из сырья растительного или животного происхождения, а также продукты первичной переработки такого сырья — эфирные и жирные масла, смолы, млечные соки и пр.) ранее называли продукты первичного или вторичного обмена (метаболизма), содержащиеся в лекарственных растениях наряду с действующими веществами. Их фармакологический эффект значительно менее выражен, но их присутствие нередко способствует пролонгированию лечебного эффекта, усиливает и ускоряет его наступление. Однако сопутствующие вещества могут проявлять и отрицательные свойства, поэтому приходится освобождаться от них в ходе приготовления из растительного сырья лекарственных средств, БАД и БАК.

Достаточно близко понятию "сопутствующие" вещества понятие "*балластные*" вещества - соединения, с которыми не связана терапевтическая активность того или иного лекарственного растения. Однако нередко они затрудняют изготовление или поддержание стабильности лекарственных форм.

Резкой границы между приведенными группами нет, и деление их условно, поскольку одну и ту же группу веществ можно отнести к действующим, а другой раз – к балластным.

Растения способны синтезировать из неорганических веществ органические, необходимые для жизнедеятельности человека и животных.

Помимо воды (70-90 %), растения состоят из неорганических и органических веществ.

На долю **неорганических (минеральных)** веществ приходится от 3 до 25% массы сухого остатка растений.

Сумма минеральных веществ (зола) остается после сжигания органической части растений. Растения содержат практически все природные элементы, причем концентрация их в растениях близка к содержанию их в почве.

Каждый минеральный элемент играет определенную роль в обмене веществ и не может быть заменен другим элементом. Минеральные элементы влияют практически на все физиологические процессы, происходящие в растениях: дыхание, рост, развитие, фотосинтез.

Неорганические вещества часто содержатся в растениях в виде комплексов с органическими соединениями. Например, кремниевая кислота в траве хвоща полевого находится в связанной с органическими соединениями растворимой форме. Слоевища ламинарии содержат органически связанный йод. Некоторые минеральные вещества непосредственно включены в структуру органических соединений (например, магний входит в состав хлорофилла).

По количественному содержанию в растениях различают макро- и микроэлементы.

К макроэлементам относятся металлы - калий (K), кальций (Ca), магний (Mg), натрий (Na), и неметаллы - кремний (Si), сера (S), фосфор (P), хлор (Cl). Содержание их не менее 0,01%.

Некоторые из макроэлементов участвуют в *фармакологическом эффекте* лекарственного растительного сырья. Например, кремнеорганические соединения хвоща полевого и горца птичьего в почках и мочевыводящих путях больного образуют защитные коллоиды, которые препятствуют кристаллизации некоторых минеральных компонентов, затрудняют образование мочевых камней.

К микроэлементам относятся железо (Fe), медь (Cu), марганец (Mn), кобальт (Co), цинк (Zn), алюминий (Al), молибден (Mo), хром (Cr), золото (Au), ртуть (Hg), свинец (Pb), серебро (Ag), йод (I), бор (B) и др. Содержание их незначительное и обычно не превышает 0,001%.

Отдельные микроэлементы также определяют фармакологическую активность лекарственного растительного сырья.

Например:

- слоевища ламинарии (бурые водоросли накапливают йод) используют при лечении и профилактике заболеваний щитовидной железы;
- сфагнум (он концентрирует Ag) применяют для лечения ран;

- сырье крапивы, тысячелистника, зайцегуба опьяняющего, богатое Са и Mg, используют при лечении больных с внутренними кровотечениями;

- побеги черники, богатые Mn и Al, применяют при профилактике и лечении больных сахарным диабетом.

Сумма неорганических веществ растений как лекарственное средство в научной медицине не используется, но применяется в народной медицине. Например, в народной медицине Бурятии для лечения ран, ожогов, трофических язв применяют золу сушеницы топяной.

Основную массу сухого остатка растений составляют органические вещества. Среди них различают вещества первичного синтеза и вещества вторичного синтеза.

При применении растений в качестве БАД и лекарственных средств на организм человека действует сложный комплекс минеральных веществ и органических соединений первичного и вторичного синтеза.

2.1.2 Биологически активные вещества лекарственных растений и вещества, кажущиеся неактивными

Биологически активные вещества (БАВ) растений обладают выраженной фармакологической активностью (их еще называют действующими веществами).

К БАВ относятся как вещества *первичного синтеза* (витамины, липиды, углеводы), так и преимущественно, вещества *вторичного синтеза* (эфирные масла, горечи, сердечные гликозиды, сапонины, алкалоиды, кумарины, хромоны, лигнаны, флавоноиды, дубильные вещества и т.д.).

Вещества, кажущиеся неактивными, условно делят на сопутствующие и балластные.

Сопутствующие вещества могут быть полезными и вредными (нежелательными).

Полезные сопутствующие вещества (витамины, органические кислоты, минеральные вещества, сахара и др.) оказывают благоприятное воздействие на

организм. Некоторые из них могут влиять на эффективность проявления фармакотерапевтического действия БАВ.

Например:

- сапонины из листьев наперстянки способствуют растворению и всасыванию сердечных гликозидов, ускоряя их действие;
- растворимые или набухающие полисахариды, дубильные вещества способствуют пролонгированию лечебного эффекта БАВ.

Примерами нежелательных сопутствующих веществ могут служить:

- производные антранола в свежесобранной коре крушины, обладающие выраженным рвотным действием;
- смолистые вещества в листьях сенны.

Балластными принято называть фармакологически индифферентные вещества, присутствие которых не отражается на действии БАВ.

Деление веществ, содержащихся в растениях, на биологически активные, сопутствующие и балластные достаточно условно.

Кажущиеся неактивными вещества, во-первых, выполняют биофармацевтическую функцию вспомогательных веществ в лекарственных формах - влияют на кинетику действующих веществ. И, во-вторых, оказывают неспецифическое благоприятное воздействие на организм больного, повышая его защитные силы и улучшая обмен веществ, что способствует лечению основного заболевания. Одна и та же группа веществ в разных растениях может играть роль или БАВ, или сопутствующих веществ.

В лекарственных растениях содержится, как правило, не одна, а несколько групп БАВ. Поэтому так часто используют экстракционные препараты из лекарственного растительного сырья - настои, отвары, настойки, экстракты.

При этом БАВ растений совместно участвуют в фармакологическом эффекте.

Например, *трава сушеницы топяной* содержит флавоноиды и каротиноиды. Настой травы сушеницы топяной применяют при лечении ожогов, ран, а также язвы желудка и 12-перстной кишки.

Флавоноиды сушеницы способствуют расширению кровеносных сосудов вблизи поврежденного места, при этом улучшается кровоснабжение (орошение кровью). Кроме того, флавоноиды снимают спазмы гладкой мускулатуры, оказывают антимикробное, противовоспалительное действие.

Каротиноиды способствуют эпителизации поврежденной поверхности. Все это способствует быстрому заживлению поврежденных тканей.

Эффективнее действуют спиртово-масляные экстракты из травы сушеницы топяной, т.к. при их получении происходит более полное извлечение БАВ.

Совместное применение с отваром из корневищ с корнями синюхи, содержащим сапонины, пролонгирует, усиливает действие БАВ сушеницы топяной.

Используя различные технологические приемы, добиваются более полного извлечения из растительного сырья отдельных групп БАВ для направленного фармакологического действия.

Например, **цветки липы** содержат эфирное масло, флавоноиды, полисахариды и дубильные вещества.

В настое, приготовленном обычным способом, будут преобладать эфирное масло и флавоноиды. При этом будет проявляться антимикробное и противовоспалительное действие, целесообразно применение настоя внутрь при простудных заболеваниях.

Если сырье предварительно замочить в холодной воде, то в приготовленном настое будет больше содержаться слизистых веществ, и будет проявляться смягчительное, отхаркивающее действие.

При получении отвара большая часть эфирного масла будет потеряна, но при этом водное извлечение будет содержать больше дубильных веществ, что приведет к усилению антисептического действия. Отвар целесообразно применять для полоскания горла.

При использовании лекарственного растительного сырья для производства препаратов необходимо учитывать наличие всех групп БАВ. Используя технологию последовательного извлечения, из некоторых видов сырья получа-

ют препараты на основе разных групп БАВ с разным фармакологическим действием. Такая технология является одним из способов рационального, более полного использования лекарственного растительного сырья.

Например:

- из *сырья ландыша* получают суммарный препарат сердечных гликозидов "Коргликон" (кардиотоническое действие);
- из отработанного сырья ландыша дальневосточного выделяют флавоноиды и получают препарат "Конвафлавин" (желчегонное действие);
- из *листьев скумпии кожевенной* получают медицинский танин;
- из отработанного сырья выделяют флавоноиды и получают препарат "Флакумин" (желчегонное действие);
- из *листьев эвкалипта* получают эфирное масло, которое входит в состав различных комплексных препаратов;
- из отработанного сырья выделяют хлорофилл и фенольные соединения для получения препарата "Хлорофиллипт" (антибактериальное действие), а также сумму терпеноидных фенолальдегидов (эуглобалей) и тритерпеноидов для получения препарата "Эвкалимин" (антимикробное и противовирусное действие).

Таким образом, современные фитохимические исследования и создание новых фитопрепаратов подтверждают условность классификации веществ лекарственных растений. Вещества, ранее считавшиеся сопутствующими или балластными, в новых препаратах являются действующими.

2.1.3 Первичный и вторичный метаболизм и продукты обмена

Под метаболизмом, или обменом веществ, понимают совокупность химических и биохимических реакций в организме, обеспечивающих его веществами для построения тела и энергией для поддержания жизнедеятельности. Часть реакций оказывается сходной для всех живых организмов (образование и расщепление нуклеиновых кислот, белков и пептидов, а также большинства угле-

водов, некоторых карбоновых кислот и т.д.) и получила название *первичного обмена* (или *первичного метаболизма*).

Помимо реакций первичного обмена, существует значительное число метаболических путей, приводящих к образованию соединений, свойственных лишь определенным, иногда очень немногим, группам организмов.

Эти реакции, согласно И. Чапеку (1921) и К. Пэху (1940), объединяются термином **вторичный метаболизм**, или *обмен*, а их продукты называются продуктами *вторичного метаболизма*, или вторичными соединениями (иногда вторичными метаболитами).

Вторичные соединения образуются преимущественно у вегетативно малоподвижных групп живых организмов — растений и грибов, а также у многих прокариот.

У животных продукты вторичного обмена образуются редко, но часто поступают извне вместе с растительной пищей.

Роль продуктов вторичного метаболизма и причины их появления в той или иной группе различны. В самой общей форме им приписываются адаптивное значение и в широком смысле защитные свойства.

Стремительное развитие химии природных соединений за последние три десятилетия, связанное с созданием высокоразрешающих аналитических инструментов, привело к тому, что мир "вторичных соединений" значительно расширился. Например, число известных на сегодня алкалоидов приближается к 5000 (по некоторым данным, к 10 000), фенольных соединений — к 10 000, причем эти цифры растут не только с каждым годом, но и с каждым месяцем.

Любое растительное сырье всегда содержит сложный набор первичных и вторичных соединений, которые, как уже говорилось, определяют разносторонний характер действия лекарственных растений. Однако роль тех и других в современной фитотерапии пока различна.

Известно относительно немного объектов, использование которых в медицине определяется прежде всего наличием в них первичных соединений. Од-

нако в будущем не исключено повышение их роли в медицине и использование в качестве источников получения новых иммуномодулирующих средств.

Продукты вторичного обмена применяются в современной медицине значительно чаще и шире. Это обусловлено ощутимым и нередко очень «ярким» их фармакологическим эффектом.

Образуясь на основе первичных соединений, они могут либо накапливаться в чистом виде, либо подвергаются гликозилированию в ходе реакций обмена, т.е. оказываются присоединенными к молекуле какого-либо сахара.

В результате гликозилирования возникают молекулы — гетерозиды, которые отличаются от вторичных соединений, как правило, лучшей растворимостью, что облегчает их участие в реакциях обмена и имеет в этом смысле важнейшее биологическое значение.

Гликозилированные формы любых вторичных соединений принято называть гликозидами.

Вещества первичного синтеза образуются в процессе ассимиляции, т.е. превращения веществ, поступающих в организм извне, в вещества самого организма (протопласт клеток, запасные вещества и т.д.).

К веществам первичного синтеза относят аминокислоты, белки, липиды, углеводы, ферменты, витамины и органические кислоты.

Липиды (жиры), углеводы (полисахариды) и витамины широко используются в медицинской практике и получении БАД.

Белки, наряду с липидами и углеводами, составляют структуру клеток и тканей растительного организма, участвуют в процессах биосинтеза, являются эффективным энергетическим материалом.

Белки и аминокислоты лекарственных растений оказывают неспецифическое благоприятное действие на организм больного. Они влияют на синтез белков, создают условия для усиленного синтеза иммунных тел, что приводит к повышению защитных сил организма. Улучшенный синтез белков включает также и усиленный синтез ферментов, вследствие чего улучшается обмен ве-

ществ. Биогенные амины и аминокислоты играют важную роль в нормализации нервных процессов.

Белки — биополимеры, структурную основу которых составляют длинные полипептидные цепи, построенные из остатков α -аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Белки делят на простые (при гидролизе дают только аминокислоты) и сложные — в них белок связан с веществами небелковой природы: с нуклеиновыми кислотами (нуклеопротеиды), полисахаридами (гликопротеиды), липидами (липопротеиды), пигментами (хромопротеиды), ионами металлов (металлопротеиды), остатками фосфорной кислоты (фосфопротеиды).

В настоящий момент почти нет объектов растительного происхождения, применение которых определялось бы наличием в них главным образом белков. Однако не исключено, что в будущем модифицированные растительные белки могут быть использованы как средства, регулирующие обмен веществ в человеческом организме.

Липиды - жиры и жироподобные вещества, являющиеся производными высших жирных кислот, спиртов или альдегидов.

Подразделяются на простые и сложные.

К простым относятся липиды, молекулы которых содержат только остатки жирных кислот (или альдегидов) и спиртов. Из простых липидов в растениях и животных встречаются жиры и жирные масла, представляющие собой триацилглицерины (триглицериды) и воски.

Последние состоят из сложных эфиров высших жирных кислот одно- или двухатомных высших спиртов. К жирам близки простагландины, образующиеся в организме из полиненасыщенных жирных кислот. По химической природе это производные кислоты простаноевой со скелетом из 20 атомов углерода и содержащие циклопентановое кольцо.

Сложные липиды делят на две большие группы: фосфолипиды и гликолипиды (т. е. соединения, имеющие в своей структуре остаток кислоты фосфорной или углеводный компонент). В составе живых клеток липиды играют

важную роль в процессах жизнеобеспечения, образуя энергетические резервы у растений и животных.

Нуклеиновые кислоты — биополимеры, мономерными звеньями которых являются нуклеотиды, состоящие из остатка фосфорной кислоты, углеводного компонента (рибозы или дезоксирибозы) и азотистого (пуринового или пиримидинового) основания. Различают дезоксирибонуклеиновые (ДНК) и рибонуклеиновые (РНК) кислоты. Нуклеиновые кислоты из растений в лечебных целях пока не используются.

Ферменты занимают особое место среди белков. Роль ферментов в растениях специфична - они являются катализаторами большинства химических реакций.

Все ферменты делятся на 2 класса: однокомпонентные и двухкомпонентные. Однокомпонентные ферменты состоят только из белка, двухкомпонентные - из белка (апофермента) и небелковой части (кофермента). Коферментами могут быть витамины.

Органические кислоты, наряду с углеводами и белками, являются самыми распространенными веществами в растениях.

Они принимают участие в дыхании растений, биосинтезе белков, жиров и других веществ. Органические кислоты относятся к веществам как первичного синтеза (яблочная, уксусная, щавелевая, аскорбиновая), так и вторичного синтеза (урсоловая, олеаноловая).

Органические кислоты являются фармакологически активными веществами и участвуют в суммарном эффекте препаратов и лекарственных форм растений:

- салициловая и урсоловая кислоты обладают противовоспалительным действием;
- яблочная и янтарная кислоты - доноры энергетических групп, способствуют повышению физической и умственной работоспособности;
- аскорбиновая кислота - витамин С.

Витамины — особая группа органических веществ, выполняющих важные биологические и биохимические функции в живых организмах. Эти органические соединения различной химической природы синтезируются главным образом растениями, а также микроорганизмами.

Человеку и животным, которые их не синтезируют, витамины требуются в очень малых количествах по сравнению с питательными веществами (белками, углеводами, жирами).

Известно более 20 витаминов. Они имеют буквенные обозначения, названия химические и названия, характеризующие их физиологическое действие. Классифицируются витамины на водорастворимые (кислота аскорбиновая, тиамин, рибофлавин, кислота пантотеновая, пиридоксин, кислота фолиевая, цианокобаламин, никотинамид, биотин) и жирорастворимые (ретинол, филлохинон, кальциферолы, токоферолы). К витаминоподобным веществам принадлежат некоторые флавоноиды, липоевая, оротовая, пангамовая кислоты, холин, инозит.

Биологическая роль витаминов разнообразна. Установлена тесная связь между витаминами и ферментами. Например, большинство витаминов группы В являются предшественниками коферментов и простетических групп ферментов.

Углеводы — обширный класс органических веществ, к которому относятся полиоксикарбонильные соединения и их производные. В зависимости от числа мономеров в молекуле они подразделяются на моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

Углеводы, состоящие исключительно из полиоксикарбонильных соединений, получили название гомозидов, а их производные, в молекуле которых имеются остатки иных соединений, называются гетерозидами. К гетерозидам относятся все виды гликозидов.

Моно- и олигосахариды — нормальные компоненты любой живой клетки. В тех случаях, когда они накапливаются в значительных количествах, их относят к так называемым эргастическим веществам.

Полисахариды, как правило, всегда накапливаются в значительных количествах как продукты жизнедеятельности протопласта.

Моносахариды и олигосахариды используются в чистом виде, обычно в виде глюкозы, фруктозы и сахарозы. Будучи энергетическими веществами, моно- и олигосахариды, как правило, применяются в качестве наполнителей при изготовлении различных лекарственных форм.

Растения являются источниками получения этих углеводов (сахарный тростник, свекла, виноград, гидролизованная древесина ряда хвойных и древесных покрытосеменных).

В растениях синтезируются различные формы **полисахаридов**, которые отличаются друг от друга как по структуре, так и по выполняемым функциям. Полисахариды находят довольно широкое применение в медицине в различных формах. В частности, широко используются крахмал и продукты его гидролиза, а также целлюлоза, пектин, альгинаты, камеди и слизи.

Целлюлоза (клетчатка) — полимер, составляющий основную массу клеточных стенок растений. Полагают, что молекула клетчатки у разных растений содержит от 1400 до 10 000 остатков β -D-глюкозы.

Крахмал и инулин относятся к запасным полисахаридам.

Крахмал на 96-97,6 % состоит из двух полисахаридов: амилозы (линейный глюкан) и амилопектина (разветвленный глюкан).

Он всегда запасается в виде крахмальных зерен в период активного фотосинтеза. У представителей сем. *Asteraceae* и *Campanulaceae* накапливаются фруктозаны (инулин), особенно в больших количествах в подземных органах.

Слизи и камеди (гумми) — смеси гомо- и гетеросахаридов и полиуронидов. Камеди состоят из гетерополисахаридов с обязательным участием уроновых кислот, карбонильные группы которых связаны с ионами Ca^{2+} , K^+ и Mg^{2+} .

По растворимости в воде камеди делятся на 3 группы:

- арабиновые, хорошо растворимые в воде (абрикосовая и аравийская);
- бассориновые, плохо растворимые в воде, но сильно в ней набухающие (трагакантовая);

- церазиновые, плохо растворимые и плохо набухающие в воде (вишневая).

Слизи, в отличие от камедей, могут быть и нейтральными (не содержат урсонных кислот), а также имеют меньшую молекулярную массу и хорошо растворимы в воде.

Пектиновые вещества — высокомолекулярные гетерополисахариды, главным структурным компонентом которых является кислота β -D-галактуроновая (полигалактуронид). В растениях пектиновые вещества присутствуют в виде нерастворимого протопектина — полимера метоксилированной полигалактуронозой кислоты с галактаном и арабаном клеточной стенки: цепочки полиуронида соединены между собой ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} .

Вещества вторичного метаболизма

Вещества вторичного синтеза образуются в растениях в результате диссимиляции.

Диссимиляция - процесс распада веществ первичного синтеза до более простых веществ, сопровождающийся выделением энергии. Из этих простых веществ с затратой выделившейся энергии образуются вещества вторичного синтеза. Например, глюкоза (вещество первичного синтеза) распадается до уксусной кислоты, из которой синтезируется мевалоновая кислота и через ряд промежуточных продуктов - все терпены.

К веществам вторичного синтеза относятся терпены, гликозиды, фенольные соединения, алкалоиды. Все они участвуют в обмене веществ и выполняют определенные важные для растений функции.

Вещества вторичного синтеза применяются в медицинской практике значительно чаще и шире, чем вещества первичного синтеза.

Каждая группа веществ растений не является изолированной и неразрывно связана с другими группами биохимическими процессами.

Например:

- большая часть фенольных соединений является гликозидами;
- горечи из класса терпенов являются гликозидами;

- растительные стероиды по происхождению являются терпенами, в то же время сердечные гликозиды, стероидные сапонины и стероидные алкалоиды являются гликозидами;

- каротиноиды, производные тетратерпенов, являются витаминами;

- моносахариды и олигосахариды входят в состав гликозидов.

Вещества первичного синтеза содержат все растения, вещества вторичного синтеза накапливают растения отдельных видов, родов, семейств.

Роль продуктов вторичного метаболизма и причины их появления в той или иной систематической группе различны. В самой общей форме им приписывается адаптивное значение и в широком смысле защитные свойства. В современной медицине продукты вторичного обмена применяются значительно шире и чаще, чем первичные метаболиты.

Алкалоиды — азотсодержащие органические соединения основного характера, преимущественно растительного происхождения. Строение молекул алкалоидов весьма разнообразно и нередко довольно сложно.

Азот, как правило, располагается в гетероциклах, но иногда находится в боковой цепи. Чаще всего алкалоиды классифицируют на основе строения этих гетероциклов, либо в соответствии с их биогенетическими предшественниками - аминокислотами.

Выделяют следующие основные группы алкалоидов: пирролидиновые, пиридиновые, пиперидиновые, пирролизидиновые, хинолизидиновые, хиназолиновые, хинолиновые, изохинолиновые, индольные, дигидроиндольные (беталаины), имидазоловые, пуриновые, дитерпеновые, стероидные (гликоалкалоиды) и алкалоиды без гетероциклов (протоалкалоиды). Многие из алкалоидов обладают специфическим, часто уникальным физиологическим действием и широко используются в медицине. Некоторые алкалоиды - сильные яды (например, алкалоиды кураре).

Антраценпроизводные — группа природных соединений желтой, оранжевой или красной окраски, в основе которых лежит структура антрацена. Они могут иметь различную степень окисленности среднего кольца (производные

антрона, антранола и антрахинона) и структуру углеродного скелета (мономерные, димерные и конденсированные соединения). Большинство из них являются производными хризацина (1,8-дигидроксиантрахинона). Реже встречаются производные ализарина (1,2-дигидроксиантрахинона). В растениях производные антрацена могут находиться в свободном виде (агликоны) или в виде гликозидов (антрагликозиды).

Витанолиды — группа фитостероидов. В настоящее время известно несколько рядов этого класса соединений. Витанолиды — это полиоксистероиды, у которых в положении 17 находится шестичленное лактонное кольцо, а в кольце А — кетогруппа у C₁.

Гликозиды — широко распространенные природные соединения, распадающиеся под влиянием различных агентов (кислота, щелочь или фермент) на углеводную часть и агликон (генин). Гликозидная связь между сахаром и агликоном может быть образована с участием атомов O, N или S (O-, N- или S-гликозиды), а также за счет C-C атомов (C-гликозиды).

Наибольшее распространение в растительном мире имеют O-гликозиды. Между собой гликозиды могут отличаться как структурой агликона, так и строением сахарной цепи. Углеводные компоненты представлены моносахаридами, дисахаридами и олигосахаридами, и, соответственно, гликозиды называются монозидами, биозидами и олигозидами.

Своеобразными группами природных соединений являются **цианогенные гликозиды и тиогликозиды (глюкозинолаты)**.

Цианогенные гликозиды могут быть представлены как производные α-гидроксинитрилов, содержащих в своем составе синильную кислоту.

Широкое распространение они имеют среди растений сем. *Rosaceae*, подсем. *Prunoideae*, концентрируясь преимущественно в их семенах (например, гликозиды амигдалин и пруназин в семенах *Amygdalus communis*, *Armeniaca vulgaris*).

Тиогликозиды (глюкозинолаты) в настоящее время рассматриваются в качестве производных гипотетического аниона — глюкозинолата, отсюда и второе название.

Глюкозинолаты найдены пока только у двудольных растений и характерны для сем. *Brassicaceae*, *Capparidaceae*, *Resedaceae* и других представителей порядка *Capparales*.

В растениях они содержатся в виде солей со щелочными металлами, чаще всего с калием (например, глюкозинолат синигрин из семян *Brassica juncea* и *B.nigra*.)

Изопреноиды — обширный класс природных соединений, рассматриваемых как продукт биогенного превращения изопрена.

К ним относятся различные терпены, их производные - терпеноиды и стероиды. Некоторые изопреноиды - структурные фрагменты антибиотиков, некоторые - витаминов, алкалоидов и гормонов животных.

Терпены и терпеноиды - ненасыщенные углеводороды и их производные состава $(C_5H_8)_n$, где $n = 2$ или $n > 2$. По числу изопреновых звеньев их делят на несколько классов: моно-, сескви-, ди-, три-, тетра- и политерпеноиды.

Монотерпеноиды ($C_{10} H_{16}$) и сесквитерпеноиды ($C_{15} H_{24}$) являются обычными компонентами эфирных масел.

К группе циклопентаноидных монотерпеноидов относятся **иридоидные гликозиды (псевдоиндиканы)**, хорошо растворимые в воде и часто обладающие горьким вкусом. Название «иридоиды» связано с иридоидиалем, который был получен из муравьев рода *Iridomyrmex*; «псевдоиндиканы» - с образованием синей окраски в кислой среде.

Дитерпеноиды ($C_{20}H_{32}$) входят главным образом в состав различных *смол*. Они представлены кислотами (резиноловые кислоты), спиртами (резинолы) и углеводородами (резены). Различают собственно смолы (канифоль, даммара), масло-смолы (терпентин, канадский бальзам), камеде-смолы (гуммигут), масло-камедесмолы (ладан, мирра, асафетида).

Масло - смолы, представляющие собой раствор смол в эфирном масле и содержащие кислоты бензойную и коричную, называют бальзамами. В медицине применяют перувианский, толутанский, стираксовый бальзамы.

Тритерпеноиды ($C_{30} H_{48}$) по преимуществу встречаются в виде **сапонинов**, агликоны которых представлены пентациклическими (производные урсана, олеанана, лупана, гопана и др.) или тетрациклическими (производные даммарана, циклоартана, зуфана) соединениями.

К тетратерпеноидам ($C_{40} H_{64}$) относятся жирорастворимые растительные пигменты желтого, оранжевого и красного цвета, **каротиноиды**, предшественники витамина А (провитамины А).

Они делятся на каротины (ненасыщенные углеводороды, не содержащие кислорода) и ксантофиллы (кислородсодержащие каротиноиды, имеющие гидроксид-, метокси-, карбокси-, кето- и эпоксигруппы). Широко распространены в растениях α -, β - и γ -каротины, ликопин, зеаксантин, виолаксантин и др.

Последнюю группу изопреноидов состава $(C_5 H_{10})_n$, представляют **поли-терпеноиды**, к которым относятся природный каучук и гутта.

Кардиотонические гликозиды, или сердечные гликозиды, гетерозиды, агликоны которых являются стероидами, но отличаются от прочих стероидов наличием в молекуле вместо боковой цепи при C_{17} ненасыщенного лактонного кольца: пятичленного бутенолидного (карденолиды) или шестичленного кумалинового кольца (буфадиенолиды). Все агликоны кардиотонических гликозидов имеют у C_3 и C_{14} гидроксильные группы, а у C_{13} - метильную.

При C_{10} может быть α -ориентированная метильная, альдегидная, карбинольная или карбоксильная группы. Кроме того, они могут иметь дополнительные гидроксилы у C_1 , C_2 , C_5 , C_{11} , C_{12} и C_{16} , последняя иногда бывает ацилирована муравьиной, уксусной или изовалериановой кислотой. Они применяются в медицине для стимуляции сокращений миокарда. Часть из них — диуретики.

Ксантоны — класс фенольных соединений, имеющих структуру дибензо- γ -пирона. В качестве заместителей содержат в молекуле гидроксид-, метокси-, ацетокси-, метилendioкси- и другие радикалы.

Известны соединения, содержащие пирановое кольцо. Некоторой особенностью ксантонов является распространение хлорсодержащих производных.

Их находят в свободном виде и в составе О- и С-гликозидов. Из ксантоновых С-гликозидов наиболее известен мангиферин, который одним из первых введен в медицинскую практику.

Кумарины - природные соединения, в основе строения которых лежит 9,10-бензо- α -пирон. Их можно также рассматривать как производные кислоты орто-гидроксикоричной (о-кумаровой). Они классифицируются на окси- и метоксипроизводные, фуру- и пиранокумарины, 3,4-бензокумарины и куместаны (куместролы).

Лигнаны - природные фенольные вещества, производные димеров фенолпропановых единиц (C_6-C_3), соединенных между собой β -углеродными атомами боковых цепей.

Разнообразие лигнанов обусловлено наличием различных заместителей в бензольных кольцах и характером связи между ними, степенью насыщенности боковых цепей.

По структуре они делятся на несколько групп: диарилбутановый (кислота гваяретовая), с 1-фенилтетрагидронафталиновый (подофиллотоксин, пельтатины), бензилфенилтетрагидрофурановый (ларицирезинол и его глюкозид), дифенилфурофурановый (сезамин, сириин-гарезинол), дибензоциклооктановый (схизандрин, схизандрол) типы и др.

Лигнины представляют собой нерегулярные трехмерные полимеры, предшественниками которых служат гидроксикоричные спирты (п-кумаровый, кониферилловый и синаповый), и являются строительным материалом клеточных стенок древесины.

Лигнин содержится в одревесневших растительных тканях наряду с целлюлозой и гемицеллюлозами и участвует в создании опорных элементов механической ткани.

Меланины - полимерные фенольные соединения, которые в растениях встречаются спорадически и представляют собой наименее изученную группу природных соединений.

Окрашены они в черный или черно-коричневый цвет. При щелочном расщеплении образуют пирокатехин, протокатеховую и салициловую кислоты.

Нафтохиноны - хиноидные пигменты растений, которые найдены в различных органах (в корнях, древесине, коре, листьях, плодах и реже в цветках). В качестве заместителей производные 1,4-нафтохинона содержат гидроксильные, метильные, пренильные и другие группы.

Наиболее известным является красный пигмент шиконин, обнаруженный в некоторых представителях сем. *Boraginaceae* (виды родов *Arnebia*, *Echium*, *Lithospermum* L. и *Onosma*).

Сапонины (сапонизиды) - гликозиды, обладающие гемолитической и поверхностной активностью (детергенты), а также токсичностью для холодно-кровных.

В зависимости от строения агликона (сапогенина), их делят на стероидные и тритерпеноидные. Углеводная часть сапонинов может содержать от 1 до 11 моносахаридов.

Наиболее часто встречаются D-глюкоза, D-галактоза, D-ксилоза, L-рамноза, L-арабиноза, D-галактуроновая и D-глюкуроновая кислоты.

Они образуют линейные или разветвленные цепи и могут присоединяться по гидроксильной или карбоксильной группе агликона.

Стероиды - класс соединений, в молекуле которых присутствует циклопентанпергидрофенантеновый скелет.

К стероидам относят стерины, витамины группы D, стероидные гормоны, агликаны стероидных сапонинов и кардиотонических гликозидов, экдизоны, витанолиды, стероидные алкалоиды.

Растительные стерины, или фитостерины, - спирты, содержащие 28-30 углеродных атомов. К ним принадлежат β -ситостерин, стигмастерин, эргостерин, кампестерин, спинастерин и др. Некоторые из них, например

β -ситостерин, находят применение в медицине. Другие используются для получения стероидных лекарственных средств – стероидных гормонов, витамина D и др.

Стероидные сапонины содержат 27 атомов углерода, боковая цепь их образует спирокетальную систему спиростанолового или фураностанолового типов. Один из стероидных сапогенинов – диосгенин, выделенный из корневищ диоскореи, – является источником для получения важных для медицины гормональных препаратов (кортизона, прогестерона).

Фенольные соединения представляют собой один из наиболее распространенных и многочисленных классов вторичных соединений с различной биологической активностью.

К ним относятся вещества ароматической природы, которые содержат одну или несколько гидроксильных групп, связанных с атомами углерода ароматического ядра. Эти соединения весьма неоднородны по химическому строению, в растениях встречаются в виде мономеров, димеров, олигомеров и полимеров.

В основу классификации природных фенолов положен биогенетический принцип. Современные представления о биосинтезе позволяют разбить соединения фенольной природы на несколько основных групп, расположив их в порядке усложнения молекулярной структуры.

Наиболее простыми являются соединения с одним бензольным кольцом – простые фенолы, бензойные кислоты, фенолоспирты, фенилуксусные кислоты и их производные. По числу ОН-групп различают одноатомные (фенол), двухатомные (пирокатехин, резорцин, гидрохинон) и трехатомные (пирогаллол, флороглюцин и др.) простые фенолы. Чаще всего они находятся в связанном виде в форме гликозидов или сложных эфиров или являются структурными элементами более сложных соединений, в том числе полимерных (дубильные вещества).

Более разнообразными фенолами являются производные фенилпропанового ряда (**фенилпропаноиды**), содержащие в структуре один или несколько фрагментов C₆-C₃.

К простым фенилпропаноидам можно отнести гидроксикоричные спирты и кислоты, их сложные эфиры и гликозилированные формы, а также фенилпропаны и циннамоиламиды.

К соединениям, биогенетически родственным фенилпропаноидам, относятся кумарины, флавоноиды, хромоны, димерные соединения - лигнаны и полимерные соединения - лигнины.

Немногочисленные группы фенилпропаноидных соединений составляют оригинальные комплексы, сочетающие в себе производные флавоноидов, кумаринов, ксантонов и алкалоидов с лигнанами (флаволигнаны, кумаринолигнаны, ксантолигнаны и алкалоидолигнаны).

Фитонциды — это необычные соединения вторичного биосинтеза, продуцируемые высшими растениями и оказывающие влияние на другие организмы, главным образом, микроорганизмы.

Наиболее активные антибактериальные вещества содержатся в луке репчатом (*Allium cepa*) и чесноке (*Allium sativum*), из последнего выделено антибиотическое соединение аллицин (производное аминокислоты аллиина).

Флавоноиды относят к группе соединений со структурой C₆-C₃-C₆, и большинство из них представляют собой производные 2-фенилбензопирана (флавана) или 2-фенилбензо-γ-пирона (флавона). Классификация их основана на степени окисленности трехуглеродного фрагмента, положении бокового фенильного радикала, величине гетероцикла и других признаках. К производным флавана принадлежат катехины, лейкоантоцианидины и антоцианидины; к производным флавона - флавоны, флаваноны, флаванолы. К флавоноидам относятся также ауруны (производные 2-бензофуранона или 2-бензилиден кумаранона), халконы и дигидрохалконы (соединения с раскрытым пирановым кольцом). Менее распространены в природе изофлавоноиды (с фенильным радикалом у C₃), неофлавоноиды (производные 4-фенилхромона), бифлавоноиды

(димерные соединения, состоящие из связанных С-С-связью флавонов, флаванонов и флавон-флаванонов) и фенилпропаноиды. К необычным производным изофлавоноидов относятся *птерокарпаны* и *ротеноиды*, которые содержат дополнительный гетероцикл. Птерокарпаны привлекли к себе внимание после того, как было выяснено, что многие из них играют роль фитоалексинов, выполняющих защитные функции против фитопатогенов. Ротенон и близкие к нему соединения токсичны для насекомых, поэтому являются эффективными инсектицидами.

Хромоны — соединения, получающиеся в результате конденсации γ -пиронового и бензольного колец (производные 5,6-бензо- γ -пирона). Обычно все соединения этого класса имеют в положении 2-метильную или оксиметильную (ацилоксиметильную) группу. Классифицируются они по тому же принципу, что и кумарины: по числу и типу циклов, сконденсированных с хромоновым ядром (фурохромоны, пиранохромоны и др.).

Экдизоны (экдисгероиды, фитоекдизоны) — полиоксистероидные соединения, обладающие активностью гормонов линьки насекомых и метаболизма членистоногих. В основе строения экдизонов лежит стероидный скелет, где в положении 17 присоединяется алифатическая цепочка из 8 углеродных атомов. Структурными особенностями гормонов являются двойная связь между C_7 и C_8 , 6-кетогруппа и 14- α -гидроксильная группа. Число и положение других ОН- групп различны.

Эфирные масла — летучие жидкие смеси органических веществ, вырабатываемых растениями, обуславливающие их запах.

В состав эфирных масел входят углеводороды, спирты, сложные эфиры, кетоны, лактоны, ароматические компоненты.

Преобладают терпеноидные соединения из подкласса монотерпеноидов, сесквитерпеноидов, изредка дитерпеноидов; кроме того, довольно обычны «ароматические терпеноиды» и фенилпропаноиды.

Растения, содержащие эфирные масла (эфироносы широко представлены в мировой флоре. Особенно богаты ими растения тропиков и сухих субтропиков.

подавляющее большинство продуктов вторичного метаболизма может быть синтезировано чисто химическим путем в лаборатории, и в отдельных случаях такой синтез оказывается экономически выгодным.

Однако не следует забывать, что в фитотерапии значение имеет вся сумма биологических веществ, накапливающихся в растении. Поэтому сама по себе возможность синтеза не является в этом смысле решающей.

2.2. ВРЕМЯ И УСЛОВИЯ ЗАГОТОВКИ, СРОКИ ХРАНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

В разное время года растение содержит разное количество биологически активных веществ, которые и определяют его ценность как лекарства. За некоторым исключением, надземные зеленые части растения — листья и травянистые стебли — накапливают БАВ в период цветения и в начале плодоношения. Плоды максимальное количество целебных веществ содержат в период полного созревания, корни и корневища — поздней осенью, после увядания надземной части растения.

Кора

Кору деревьев и кустарников (например, дуба, калины, осины, крушины) надо собирать весной, в период усиленного сокодвижения. В это время кору легко снять с дерева, сделав на ветке или тонком стволике несколько продольных надрезов длиной до полуметра и соединив их поперечными надрезами. Подняв надрезанную кору с верхнего конца, можно легко отделить весь кусок в виде трубочки, всю эту операцию проделывают острым ножом. Если кора покрыта наростами кустистых лишайников, то их предварительно тщательно очищают ножом, а иначе можно испортить сырье, не получить из него полноценного лекарства. Нельзя также вкладывать снятые трубочки коры одну в дру-

гую – они могут заплесневеть, покрыться темными пятнами, а это тоже испортит сырье.

Корни и корневища

Как правило, корни и корневища выкапывают осенью или в конце лета, когда растение отцвело. Некоторые виды можно собирать ранней весной. Корни и корневища нельзя выдергивать руками: самая большая и самая ценная часть подземного органа останется в земле. Лучше иметь специальную лопату со скругленным лезвием и небольшим желобом по плоскости. Корневища и корни сначала отряхивают от земли, а затем начисто промывают в ближайшем ручье. Если заготовка сырья масштабная, то промывать его лучше в больших плетеных корзинах в проточной воде. Промытые корни тут же раскладывают на чистой траве, на холстине и просушивают. Затем корни очищают от остатков стеблей, мелких корешков, поврежденных или сгнивших частей и несут к месту окончательной сушки.

Листья, трава, цветки

Листья, траву, цветки можно заготавливать только в сухую погоду, лучше утром, когда подсохнет роса. Растения, собранные после дождя или покрытые росой, очень быстро чернеют и портятся.

Собирать цветки надо в начале цветения, когда у цветка еще нет признаков увядания. В этот период они содержат больше действующих веществ, меньше осыпаются при хранении, лучше выдерживают сушку и сохраняют свою окраску. Исключением являются цветки череды и софоры, которые собирают в период бутонизации. Цветки собирают вручную, ощипывая их и обрывая цветоножки. Для растений с крупными соцветиями (например, ромашка, пижма) можно использовать так называемый механизированный сбор, используя специальный ковш и ящичек с гребнем. После просушки соцветия перебирают, удаляя цветоножки, листья и другие примеси.

В корзинки листья, траву и цветки нужно укладывать рыхло, не трамбуя, чтобы они не нагрелись и не почернели.

Плоды

Плоды собирают только в сухую погоду, в период их полного созревания, и обрывают вручную, без плодоножки. У рябины, тмина плоды тщательно отделяют от плодоножек после просушивания. Не годятся червивые или гнилые плоды. Особенно трудно правильно собрать сочные ягоды, в том числе чернику, малину, землянику. Укладывают их в корзину, обшитую внутри тканью, каждый слой прокладывают веточками, чтобы плоды не слеживались и не давили друг друга.

Почки

Почки березы и тополя собирают ранней весной, когда они набухают, но еще не тронулись в рост, это обычно бывает в феврале, марте или в апреле. Сушить почки следует очень осторожно: длительное время в прохладном проветриваемом помещении, так как в теплом помещении они распускаются.

Рекомендации по сбору ЛРС:

- надземную часть растений надо собирать на растущей луне, подземные части – на убывающей луне;
- с нецветущих экземпляров листья лучше обрывать вручную — с черешками или без черешков, в зависимости от вида растения. Листья должны быть полностью развившимися и обязательно свежими. Иногда для сбора листьев можно срезать или скосить всю надземную часть растения, а после высушивания собрать листья руками или обмолотить их;
- у некоторых высоких растений (например, полынь, пустырник, зверобой, пижма) срезать надо только цветущие верхушки длиной 20-40 см или обламывать вручную боковые цветущие веточки;
- если у растения много стеблей (например, чабрец, душица, донник), то после высушивания растение обмолачивают, а стебли, лишенные листьев, выбрасывают;
- следует строго придерживаться календарного времени сбора растений, но не менее важно правильно хранить сырье, а также не использовать растения

с просроченным сроком действия. Как и химиопрепараты, растения с просроченным сроком действия непригодны для фитотерапии.

Как показали эксперименты, наиболее оптимальная температура сушки лекарственного сырья не должна превышать 50 °С, иначе действие энзимов ослабевает или полностью прекращается. Самый эффективный способ сушки — это сушка на сухом проветриваемом чердаке под железной крышей, при этом следует открыть все окна. Можно использовать для сушки растений пустые комнаты, чистые сухие сараи. Сырье можно сушить просто на воздухе, но не под прямыми солнечными лучами: листья, трава и цветки на солнце теряют окраску и количество действующих веществ. На солнце подвяливают корни и корневища, плоды шиповника, малины или черники и другие сочные плоды перед тем, как загрузить их в печь или специальную тепловую сушилку. Оставляя сырье на ночь, его следует укрыть от росы. В процессе сушки корни надо переворачивать несколько раз в день чистой лопатой или граблями. Можно сушить растения в овощесушилке.

Качественно высушенное растительное сырье всегда содержит некоторое количество влаги (обычно от 8 до 15%), правильно высушенные корни и корневища ломаются с некоторым треском, листья должны перетираться пальцами, жилки листьев и стебли трав — ломаться, цветки должны быть сухими на ощупь. Высушенные сочные плоды при сжатии в руке не должны слипаться в комок.

Высушенное растительное сырье можно хранить в бумажных и матерчатых мешках, некоторые виды сырья, особенно гигроскопичные или содержащие эфирные масла, лучше хранить в плотно закрытых сосудах. Согласно требованиям фармакопеи, ядовитые и сильнодействующие средства необходимо держать отдельно от остальных, лучше — в специальных запирающихся шкафах.

2.3. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА РЕЦЕПТУРЫ НОВЫХ БАД

При разработке БАД целесообразно использовать накопленный опыт и данные по лечебному, лечебно-профилактическому и функциональному питанию, фитотерапии, биохимии, опыт по национальному питанию народов мира, данные по заболеваемости в различных регионах и их зависимость от рациона, и множество других факторов.

На современном этапе создания рецептур БАД, предназначенных для промышленного производства, перед учеными и производителями стоят следующие задачи:

- изучение состава и свойств продуктов питания, входящих в рацион современного человека;
- выделение и изучение биохимической и фармакологической активности биологически активных веществ, в том числе эссенциальных и минорных, входящих в продукты питания;
- анализ и изучение данных истории, археологии и литературы с целью определения продуктов, входивших ранее в рацион питания наших предков;
- изучение влияния продуктов питания, их компонентов или аналогов на организм здорового и больного человека, в том числе в условиях неблагоприятного воздействия окружающей среды;
- сбор и анализ данных эпидемиологических исследований с целью изучения влияния рационов питания и отдельных видов продуктов на определенные группы населения;
- определение концентраций макро- и микронутриентов в продуктах питания и подбор дозы, оптимальной для использования в составе БАД.
- разработка и оптимизация рецептуры, подбор сырья, маркировки, упаковки, соблюдение требований к сохранению качества и безопасности при изготовлении, определение сроков годности и методики испытаний, создание научно-технической документации;

- заготовка и стандартизация сырья;
- выделение биологически активных компонентов или подготовка природных компонентов;
- изготовление готовой формы;
- стандартизация готовой формы;
- клиническое обоснование эффективности готовой продукции и введение в оборот.

Количественный состав БАД. Важнейшим аспектом разработки рецептуры БАД является определение дозы вводимых ингредиентов. Суточная доза БАД должна довести содержание естественных эссенциальных макро- и микронутриентов, минорных компонентов до соответствующего уровня их физиологической потребности у человека.

В соответствии с законодательством России, БАДы к пище могут рассматриваться в качестве дополнительного источника белков, жиров или углеводов только в том случае, если их количество в разовой порции БАД находится на уровне не ниже 2 % от рекомендуемого суточного потребления этих компонентов; в отношении витаминов, макро- и микроэлементов и БАВ эта величина не должна быть ниже 10 %.

В то же время содержание витаминов в суточной дозировке БАД не должно превышать рекомендуемую величину суточного потребления (адекватный уровень суточного потребления) более, чем в три раза для витаминов А, D, К, В₁, В₂, В₆, В₁₂, ниацина, фолиевой и пантотеновой кислот, биотина; для витаминов Е и С – не более, чем в 10 раз. При рекомендации потребления витаминов выше адекватного уровня производитель должен представлять убедительную доказательную базу. Она может быть получена как в результате анализа и обобщения литературных данных, так и в результате специально проведенных экспериментальных исследований или клинических наблюдений. Эти документы представляются при государственной регистрации БАД в России. Количество минеральных веществ в составе БАД допускается на уровне, как правило, не превышающем суточную (адекватную) потребность в них в два раза.

Рекомендации по повышенному уровню потребления минеральных веществ (выше 100 % от адекватного уровня), так же как и витаминов, должны иметь убедительную документированную доказательную базу.

Устанавливая допустимую величину содержания в БАД лекарственного растительного сырья, необходимо учесть то, что продукт, с одной стороны, должен быть источником БАВ, а с другой – принадлежать к группе пищевых продуктов (БАД). В настоящее время суточная доза многих минорных компонентов до сих пор не изучена: известно, что в день человек должен потреблять до 1,5 г так называемых вторичных растительных компонентов.

В составе суточной порции БАД содержание фармакологически активных соединений лекарственного сырья не должно превышать 50-60 % от разовой терапевтической дозы при использовании данного растения в качестве лекарственного средства. При этом нижняя граница содержания этих соединений в БАД должна быть не ниже 10 % от разовой терапевтической дозы. Такой подход, с одной стороны, обеспечивает присутствие в БАД важных профилактических свойств, а с другой, гарантирует безопасность содержания специфических фармакологически активных компонентов.

Производство БАД может осуществляться на предприятиях пищевой, фармацевтической и биотехнологической промышленности. Оно регламентируется требованиями, предъявляемыми к пищевым производствам.

В соответствии с требованиями МУК 2.3.2.721 производитель БАД должен обеспечить обоснование соответствия БАД заявленным медико-биологическим эффектам, срокам годности, показателям качества и безопасности продукции, требованиям по их соблюдению на этапах обращения, а также методам контроля. Производство биологически активных добавок к пище должно осуществляться в соответствии с нормативной и технической документацией и отвечать требованиям санитарных правил и норм в области обеспечения качества и безопасности, и подтверждаться производителем в удостоверении о качестве. Производству БАД должна предшествовать его регистрация в Министерстве здравоохранения РФ и наличие санитарно-эпидемиологического

заклучения Роспотребнадзора РФ о соответствии условий производства санитарным правилам и нормам, требованиям по обеспечению качества и безопасности БАД, установленным в технической документации, а также регламентируемыми в регистрационном удостоверении.

Упаковка и маркировка БАД. Упаковка должна обеспечивать сохранность и качество продукции на всех этапах ее оборота. При упаковке используются только те материалы, которые в установленном порядке разрешены для контакта с пищевыми продуктами или лекарственными средствами. Информация наносится на упаковку БАД в соответствии с действующими законодательными нормативными документами, регламентирующими вынесение на этикетку информации для потребителя.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ БАВ ИЗ СЫРЬЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Цель занятия: формирование знаний и навыков работы для определения выхода экстрактивных веществ из лекарственного сырья разного качества при различных режимах экстрагирования.

Задания:

1. Определить влажность растительного сырья (свежего и свежемороженого) – п. 1.1.
2. Получить контрольные образцы экстрактов из каждого вида сырья (п. 1.2).
3. Получить опытные образцы экстрактов (п. 1.3).

По п. 1.4:

4. Определить содержание экстрактивных веществ **в водных экстрактах**, полученных при $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180** мин из **листьев мяты перечной**: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженных.
5. Определить содержание экстрактивных веществ **в водных экстрактах**, полученных при $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180** мин из **листьев мяты перечной**: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженных.
6. Определить содержание экстрактивных веществ **в водных экстрактах**, полученных при $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180** мин из **листьев Melissa лекарственной**: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженных.
7. Определить содержание экстрактивных веществ **в водных экстрактах**, полученных при $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180** мин из **листьев Melissa лекарственной**: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженных.
8. Определить содержание экстрактивных веществ **в водно-спиртовых экстрактах**, полученных при $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180**

мин из листьев мяты перечной: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженых.

9. Определить содержание экстрактивных веществ **в водно-спиртовых экстрактах**, полученных при **T=40 °C** в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180 мин** из листьев мяты перечной: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженых.

10. Определить содержание экстрактивных веществ **в водно-спиртовых экстрактах**, полученных при **T=20 °C** в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180 мин** из листьев **мелиссы лекарственной**: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженых.

11. Определить содержание экстрактивных веществ **в водно-спиртовых экстрактах**, полученных при **T=40 °C** в течение **5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180 мин** из листьев **мелиссы лекарственной**: 1) высушенных; 2) свежих; 3) свежемороженых.

12. Построить графики зависимости выхода экстрактивных веществ (%), от продолжительности экстрагирования (мин) для всех экспериментальных образцов (рис. 4).

13. Определить оптимальные параметры экстракции для каждого вида сырья.

14. Сравнить показатели выхода экстрактивных веществ в контрольном образце с образцом, полученным наиболее оптимальным способом экстрагирования.

15. Ответить на контрольные вопросы (с. 54).

1. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Перед началом лабораторного практикума следует изучить материал из учебно-методического пособия «Экстракционные методы получения биологически активных веществ из растительного сырья», а также [4].

Содержание экстрактивных веществ является одной из важных характеристик, которая дает возможность установить качество экстракта, получаемого из лекарственного растительного сырья. Известно, что процесс извлечения экстрактивных веществ зависит от ряда факторов, таких как качество сырья, продолжительность экстракции и температура. Ввиду этого возникает необходимость изучения влияния технологических факторов на выход экстрактивных веществ из лекарственного растительного сырья, позволяющий выбрать наиболее предпочтительный режим экстрагирования.

Объекты исследования – листья мяты перечной и Melissa лекарственной или другого ЛРС.

Исходное сырье: высушенные, свежие и свежемороженые листья или др. части растений. Размер частиц: 1-3 мм.

Экстрагенты: вода, спирт (40 % и 70 %-й концентрации).

1.1. Определение влажности растительного сырья

Арбитражный метод

Под влажностью сырья понимают потерю в массе за счет гигроскопической влаги и летучих веществ, которую определяют в сырье при высушивании до постоянной массы.

Техника определения. Берут две навески хорошо измельченного сырья массой 3-5 г, взвешенные с погрешностью $\pm 0,01$ г. Каждую навеску помещают в предварительно высушенный и взвешенный вместе с крышкой бюкс и ставят в нагретый до 100-105 °С сушильный шкаф. Время высушивания отсчитывают с того момента, когда температура в сушильном шкафу вновь достигнет 100-105 °С. Первое взвешивание листьев проводят через 2 ч. Высушивание проводят до постоянной массы. Постоянная масса считается достигнутой, если разница между двумя последующими взвешиваниями после 30 мин высушивания и 30 мин охлаждения в эксикаторе не превышает 0,01 г.

Влажность сырья (X, %) вычисляют по формуле (1):

$$X = \frac{(m-m_1) \cdot 100}{m}, \quad (1)$$

где m - масса сырья до высушивания, г;

m_1 - масса сырья после высушивания, г.

За окончательный результат определения принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, вычисленных до десятых долей процента. Допускаемое расхождение между результатами двух параллельных определений не должно превышать 0,5%.

Экспресс-метод определения массовой доли влаги на приборе ВЧ конструкции К.Н. Чижовой

Для быстрого удаления влаги используют высушивание с помощью инфракрасных лучей, которые воспринимаются не только поверхностью, но и проникают вглубь продукта на 2-3 мм, обуславливая его интенсивный прогрев. Одним из источников инфракрасных лучей могут быть нагретые металлические поверхности.

На этом принципе работает прибор ВЧ (рис. 1), представляющий собой две массивные металлические плиты (сплав алюминия и чугуна) круглой или прямоугольной формы, между которыми помещается тонкий слой высушиваемого материала. Плиты соединены между собой шарниром и нагреваются электрическими элементами, расположенными с внешних сторон прибора, что обеспечивает быстрое обезвоживание продукта. В процессе работы расстояние между плитами прибора составляет 2 мм, температура контролируется термометрами. Нагрев плит может быть как сильным, так и слабым. Сильный нагрев используется при первоначальном разогревании прибора, слабый - для поддержания требуемой температуры. Переключают сильный нагрев на слабый специальным переключателем. Контактный термометр обеспечивает постоянство заданной температуры в пределах ± 1 °С.

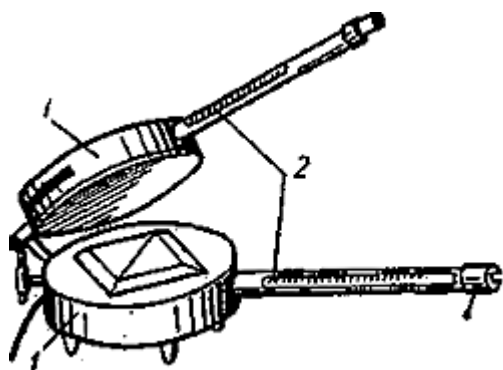


Рисунок 1 - Прибор ВЧ

(конструкция К.Н. Чижовой): 1 - металлические плиты; 2-термометры, заключенные в гильзы

Высушивают объект в пакетах треугольной или прямоугольной формы, которые готовят из газетной или фильтровальной бумаги.

Пакеты для прибора прямоугольной формы готовят следующим образом (рис. 2). Лист бумаги форматом 20 x 14 см складывают пополам, а открытые с трех сторон края пакета загибают на 1,5 см; размер готовых пакетов 8,5 x 11 см. Для прибора круглой формы бумагу форматом 15 x 15 см складывают по диагонали, загибая края на 1,5 см. В приборе легко помещаются два таких пакета, что позволяет проводить одновременно параллельные определения.

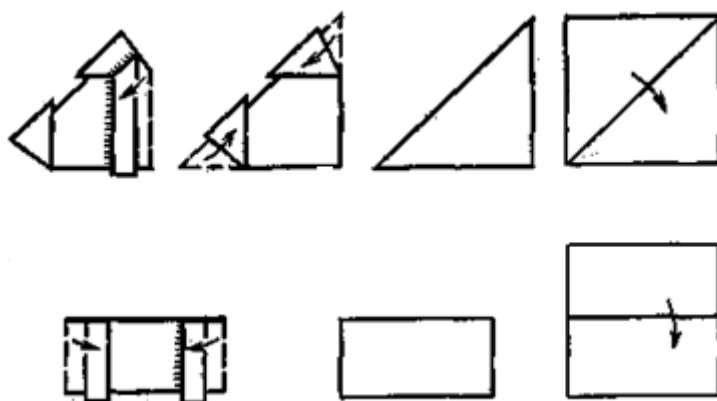


Рисунок 2 – Порядок подготовки бумажных пакетов для прибора ВЧ

При определении влажности сочного растительного сырья в бумажный пакет помещают дополнительный лист из фильтровальной бумаги размером 11 x 24 см, сложенный в три слоя так, чтобы два слоя помещались на нижней стороне пакета, а один слой - на верхней стороне.

Материалы, реактивы, оборудование. ЛРС, фарфоровая ступка с пестиком, пакеты из газетной бумаги, технические весы, эксикатор, прибор ВЧ.

Техника определения. Подготовленные пакеты предварительно высушивают в приборе при температуре 160 °С в течение 3 мин, охлаждают 2-3 мин в эксикаторе и взвешивают с точностью $\pm 0,01$ г.

В высушенный и взвешенный бумажный пакет на технических весах взвешивают 3 г образца, помещают его между плитами прибора, нагретого до 160°С, и выдерживают при этой температуре в течение 3 мин. Затем, охладив в эксикаторе в течение 2 мин, пакет с пробой взвешивают.

Массовую долю влаги в образце W , % определяют по формуле (2):

$$W = \frac{m - m_1}{m - m_2} \cdot 100, \quad (2)$$

где m - масса пакета с навеской до высушивания, г;

m_1 - масса пакета с навеской после высушивания, г;

m_2 - масса пакета, г.

1.2. Приготовление контрольных экстрактов

Навеску по 2 г измельченного сырья (высушенного, свежего и свежемороженого) помещают каждое в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл 70%-го спирта. Колбу соединяют с обратным холодильником и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры и фильтруют содержимое через бумажный фильтр в колбу. В полученных экстрактах определяют концентрацию экстрактивных веществ методом рефрактометрии.

1.3. Приготовление опытных экстрактов

2 г измельченного до определенных размеров частиц 1-3 мм растительного сырья (высушенного, свежего, свежемороженого) помещают в коническую колбу со шлифом, объемом 250 мл и заливают 60 мл экстрагента. В качестве экстрагента используют воду и этиловый спирт с концентрацией 40%. Затем колбы плотно закрываются, и сырье оставляют настаиваться при периодическом встряхивании (по возможности) при температуре 20 °С / 40 °С в течение 5, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180, мин. По истечении каждого промежутка времени

берется проба на определение концентрации экстрактивных веществ методом рефрактометрии (см. пункт 4). Полученные данные вносятся в таблицы 1-4.

Таблица 1 – Экспериментальные данные рефрактометрии испытуемых водных экстрактов листьев мяты перечной

τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из высушенного сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежего сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежемороженого сырья	
	t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C
5								
20								
40								
60								
90								
120								
150								
180								

Таблица 2 – Экспериментальные данные рефрактометрии испытуемых водно-спиртовых экстрактов листьев мяты перечной

τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из высушенного сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежего сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежемороженого сырья	
	t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C
5								
20								
40								
60								
90								
120								
150								
180								

Таблица 3 – Экспериментальные данные рефрактометрии испытуемых **водных экстрактов листьев мелиссы лекарственной**

τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из высушенного сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежего сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежемороженого сырья	
	t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C
5								
20								
40								
60								
90								
120								
150								
180								

Таблица 4 – Экспериментальные данные рефрактометрии испытуемых **водно-спиртовых экстрактов листьев мелиссы лекарственной**

τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из высушенного сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежего сырья		τ, мин.	Концентрация экстрактивных веществ в экстракте из свежемороженого сырья	
	t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C		t=20°C	t=40°C
5								
20								
40								
60								
90								
120								
150								
180								

1.4. Определение содержания экстрактивных веществ

В зависимости от экстрагента настраивают рефрактометр на работу со спиртом или водой.

Перед работой на рефрактометре открывают заслонку 7 (рис. 3) осветительной призмы 6 и протирают смоченной эфиром, спиртом или ацетоном ватой гипотенузные плоскости осветительной 6 и измерительной призм 11 (сильно смачивать не следует). Дают растворителю испариться и на плоскость измерительной призмы 11 наносят стеклянной палочкой или капилляром несколько капель исследуемого вещества. При этом палочка не должна касаться призмы. Закрывают заслонку 7 и поворотом зеркала, расположенного ниже измерительной призмы и зеркала, расположенного на левой стороне рефрактометра, добиваются наилучшей освещенности шкалы.

Глядя в зрительную трубу, фокусируют окуляр 4 так, чтобы шкала прибора и перекрестие были отчетливо видны. Вращением маховика 2 (рис. 3) находят границу светотени в поле зрения окуляра. Если граница размыта, то с помощью маховика 2, вращая его в любом направлении, необходимо добиться, чтобы граница раздела света и тени была четкой. Затем при помощи вращения маховика 5 добиваются исчезновения окраски граничной линии.

Наблюдая в окуляр, 0 маховиком 2 необходимо совместить границу светотени точно на перекрестие и снять отсчет по шкале показателей преломления. Индексом для отсчета служит неподвижный вертикальный штрих призмы. Снятые показания заносят в таблицы 1-4.

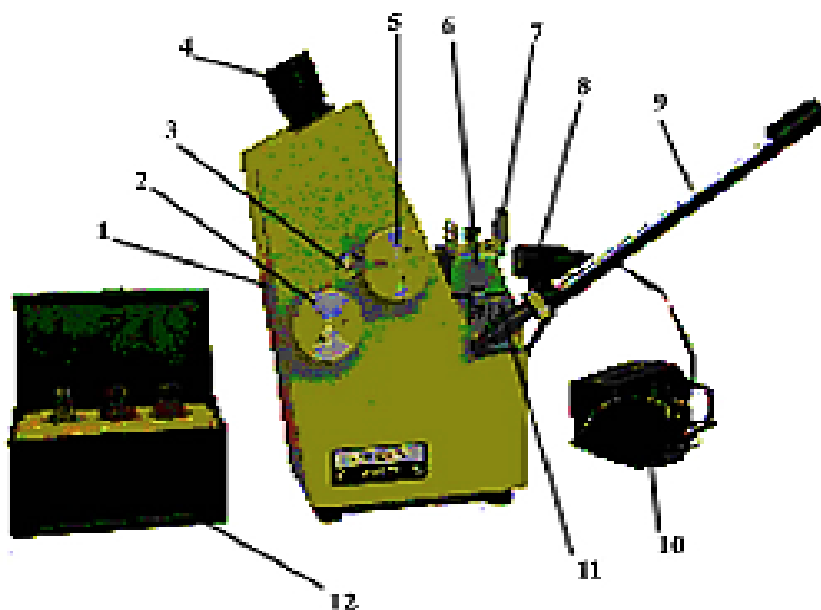


Рисунок 3 - Внешний вид рефрактометра

1 – корпус; 2 – маховик; 3 – заглушка; 4 – окуляр; 5 – маховик;
 6 – оправа осветительной призмы; 7 – заслонка;
 8 – осветитель; 9 – термометр; 10 – блок питания;
 11 – оправа измерительной призмы; 12 – упаковка

1.5. Пример построения графиков по результатам работы

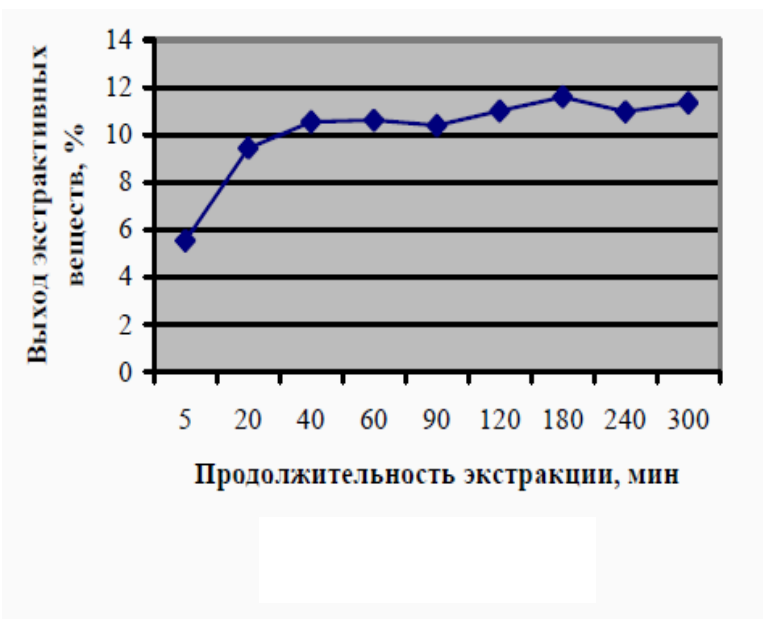


Рисунок 4 - График зависимости выхода экстрактивных веществ от продолжительности экстрагирования (водный экстракт высушенных листьев мяты перечной, $t=20\text{ }^{\circ}\text{C}$)

2. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Что такое экстракция? Основные стадии процесса экстракции.
2. Какие факторы влияют на полноту и скорость экстрагирования?
3. Как влияет степень измельчения сырья на диффузионный процесс?
4. Какую роль играет температура и вязкость экстрагента при экстракции растительного сырья?
5. Чем определяется выбор экстрагента?
6. Какое оборудование используется для экстракции?
7. Какие методы экстракции используются в производстве экстрактов?
8. Из каких стадий состоит технологическая схема производства сухих экстрактов?
9. В чем заключается сущность метода циркуляционного экстрагирования?
10. В каких случаях используют спиртоочистку?
11. Каковы преимущества и недостатки экстракции сжиженными газами и сверхкритической экстракции?
12. Какие методы используют для определения концентрации вещества в растворе?
13. Что является движущей силой диффузионного процесса при экстрагировании растительного сырья?
14. Какой принцип действия аппарата Сокслета при получении экстрактов?
15. С какой целью производят экстракты-концентраты?

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ ПЕКТИНА

Цель занятия: формирование знаний и навыков по извлечению пектина из растительного сырья и определения его физико-химических характеристик.

Задание. Выделить пектин из растительного сырья (п. 1. 1). Определить физико-химические характеристики пектиновых веществ (п. 1.2). Сделать вывод по результатам выполнения лабораторной работы. Ответить на контрольные вопросы.

1. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Перед началом лабораторного практикума следует изучить лекционный материал по теме «Полисахариды. Пектин», соответствующие главы литературы [3, 12, 22], а также освоить материал теоретической части лабораторной работы.

1.1. ВЫДЕЛЕНИЕ ПЕКТИНА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Задание: Выделить пектин из выжимок яблок

Перед извлечением пектина сушеные выжимки в количестве 100 г дробят, затем обрабатывают холодной водой в соотношении 1:2 для извлечения сахаров, кислот, солей. Пектин в холодной воде не растворяется, поэтому ее температура должна быть не выше, чем 10...15°C. В противном случае происходит вымывание растворимого пектина.

Экстракцию пектина производят горячей водой, подкисленной сернистой или соляной кислотой, при этом он переходит в раствор. Режим гидролиза для сушеных выжимок: соотношение выжимок и воды 1:4; температура 80...90°C;

продолжительность гидролиза 1 час. Экстракт отделяется от отработанных выжимок отжимом на вакуум-филт্রে.

Для очистки горячий экстракт при температуре 50...55°C фильтруют на вакуум-филт্রে, затем концентрируют до объёма 140 мл и осаждают пектин из раствора этиловым спиртом. Соотношение объемного количества спирта и концентрата составляет 1,2:1. Во избежание выпадения вместе с пектином минеральных примесей в спирт после введения концентратов добавляют соляную кислоту в количестве 0,3 % и смесь перемешивают 10 мин.

Осажденный пектин отделяют от раствора путем вакуум-филтрования. Пектин, оседающий на фильтрующей перегородке, промывают трехкратно 70%-м этиловым спиртом, подкисленным соляной кислотой. Затем пектин отмывают от ионов хлора 60%-м этиловым спиртом.

Далее пектин сушат на воздухе. Выход сухого пектина составляет 5 % от высушенной выжимки.

1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Задание: определить физико-химические характеристики разных видов пектина.

Оборудование и материалы:

бюкс	3 шт.
стакан	5 шт.
бюретка	2 шт.
колба коническая	5 шт.
колба мерная	2 шт.
фильтр стеклянный	1 шт.
тигель	3 шт.
эксикатор	1 шт.
сушильный шкаф	1 шт.

потенциометр	1 шт.
установка для дистилляции	1 шт.
печь муфельная	1 шт.
весы аналитические	1 шт.
спирт этиловый 96%-й	1000 мл
кислота соляная концентрированная	50 мл
гидроокись натрия	10 г
фенолфталеин	10 мл
уксусная кислота	50 мл
кальций хлористый	5 г
сульфат магния	100 г

Опыт 1. Определение массовой доли влаги

Взвешенную навеску пектина массой от 0,5 до 0,8 г помещают в бюкс и высушивают в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение 40 мин. Массовую долю влаги пектина рассчитывают по формуле:

$$W = \frac{g_1 - g_2}{g_1 - g_0} \cdot 100,$$

где g_1 – масса бюкса с навеской до сушки, г;

g_2 – масса бюкса после сушки, г;

g_0 – масса пустого бюкса, г.

Опыт 2. Определение pH 1%-го раствора пектина

Порошок пектина (1 г) растворяют при перемешивании в 100 мл дистиллированной воды. Полученную смесь нагревают в течение 10...15 мин. при температуре от 50 до 60°C. Раствор декантируют от нерастворимого остатка и определяют pH потенциометром с применением стеклянного или хингидронного электрода.

Опыт 3. Определение массовой доли пектовой кислоты

Навеску пектина массой от 0,05 до 0,08 г растворяют в 20 мл дистиллированной воды со льдом и ставят на 2...3 ч для набухания и растворения пектина. Затем раствор пектина нейтрализуют по фенолфталеину, добавляя 1 мл 10%-й соляной кислоты. В полученный раствор по каплям добавляют от 80 до 85 мл 96%-го этилового спирта, энергично перемешивая. Через 1...2 ч образовавшийся осадок пектиновых веществ количественно переносят на плотный бумажный фильтр, промывают три раза водно-спиртовым раствором (четыре части 96%-го спирта и одна часть воды) и один раз 96%-м спиртом, не давая осадку высохнуть на фильтре.

Осадок количественно смывают с фильтра горячей водой в стакан вместимостью 500 мл, а фильтр помещают в отдельный стакан и промывают 2-3 раза горячей водой. Промывные воды собирают в стакан вместимостью 500 мл, куда был смыт осадок пектина, причем количество промывной жидкости не должно превышать 200 мл. Содержимое стакана нейтрализуют по фенолфталеину 0,1 Н раствором гидроокиси натрия до слабо-розового окрашивания. Для гидролиза пектина добавляют 20 мл 0,5 Н раствора гидроокиси натрия и оставляют на 15...20 ч. Затем раствор нагревают до температуры 50...60°C и фильтруют через плотный бумажный фильтр. По окончании фильтрации фильтр промывают несколько раз горячей водой, присоединяя промывные воды к первому фильтрату. Общее количество жидкости должно быть от 275 до 300 мл. К фильтрату добавляют 50 мл 1 Н уксусной кислоты, 50 мл хлористого кальция (2 Н), перемешивают и ставят на 1 ч, после чего смесь кипятят в течение 5 мин и фильтруют через высушенный до постоянной массы и взвешенный беззольный фильтр. Осадок на фильтре промывают кипящей водой до отрицательной реакции на ион хлора (проверка по реакции Cl^- с азотнокислым серебром). Затем осадок промывают 96%-м этиловым спиртом. Фильтр с осадком высушивают в сушильном шкафу до постоянной массы.

Масса осадка принимается равной массе пектата кальция. Содержание пектовой кислоты (P_k , %) рассчитывают по формуле:

$$P_k = \frac{(G - g_0) \cdot 100 \cdot 0,92}{G_1},$$

где G – масса бюкса с осадком после сушки, г;

G_1 – навеска пектина, г;

0,92 – коэффициент пересчета пектата кальция на пектовую кислоту.

Опыт 4. Определение массовой доли балластных веществ

Навеску пектина массой от 3 до 4 г помещают в коническую колбу, заливают подкисленным спиртом (100 мл 70%-го этилового спирта и 5 мл концентрированной соляной кислоты) и перемешивают 15 мин. Затем смесь переносят количественно на стеклянный фильтр № 2 и промывают подкисленным спиртом до отрицательной реакции на ионы кальция (с оксалатом аммония) и ионы алюминия (с ализарином).

Осадок промывают чистым 75%-м спиртом до отрицательной реакции на ион хлора (с азотнокислым серебром), затем чистым 96%-м спиртом и высушивают в сушильном шкафу при температуре от 80 до 85°C до постоянной массы.

Количество балластных веществ (B , %) рассчитывают по формуле:

$$B = \frac{(G_1 - G_n) \cdot 100}{G_1},$$

где G_n – масса пектина после промывки спиртом, г.

Опыт 5. Определение массовой доли свободных и метоксилированных карбоксильных групп

Промытый и высушенный пектин (1 г) помещают в колбу объемом 300 мл, смачивают чистым 96%-ным этиловым спиртом для предотвращения комкования и добавляют 100 мл дистиллированной воды, перемешивают и оставляют на ночь до полного растворения пектина. Раствор титруют 0,1 Н NaOH при добавлении шести капель индикатора Хинтона до появления красного окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Для индикатора смешивают один объем 0,4%-го бромтимолового синего, один объем 0,4%-го крезол крас-

ного, три объема 0,4%-го фенола красного и один объем дистиллированной воды.

Содержание свободных карбоксильных групп (K_c , %) рассчитывают по формуле:

$$K_c = \frac{a}{G_1} \cdot 0,45,$$

где a – количество 0,1 Н раствора NaOH, израсходованное на титрование, мл; 1 мл 0,1 Н раствора NaOH соответствует 0,0045 г COOH.

В этом же растворе определяют количество метоксилированных карбоксильных групп. К нейтрализованной пробе после определения содержания свободных карбоксильных групп добавляют из бюретки 10 мл 0,5 Н NaOH. Колбу закрывают и оставляют на 2 ч при комнатной температуре для гидролиза метоксилированных карбоксильных групп. Затем к раствору добавляют из бюретки 10 мл 0,5 Н HCl и избыток последней титруют 0,1 Н NaOH.

Количество 0,1 Н NaOH, израсходованное на второе титрование, соответствует количеству этерифицированных групп ($K_э$, %) в исследуемой пробе, которое рассчитывают по формуле:

$$K_э = \frac{b}{G_{нв}} \cdot 0,45,$$

где b – количество 0,1 Н NaOH, израсходованное на второе титрование;

$G_{нв}$ – навеска промытого и высушенного порошка пектина, г.

Для расчета количества метоксилированных карбоксильных групп необходимо вводить поправку на ацетильные группы, которые также гидролизуются при этих условиях. Количество метоксильных групп (K_m , %) с учетом поправки на ацетильные группы составляет:

$$K_m = K_э - A_{ц},$$

где $A_{ц}$ – количество ацетильных групп, %.

Опыт 6. Определение массовой доли ацетильных групп в пектине

Навеску пектина (1,0 г) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 25 мл 0,6%-го раствора NaOH и оставляют на

6...8 ч. Затем содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой. Отбирают 20 мл раствора в перегонную колбу, добавляют 20 мл раствора $MgSO_4$ (100 г $MgSO_4$ растворяют в воде до 180 мл и добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты).

Дистилляцию проводят, нагревая колбу на горелке, пока объем в ней не достигнет 15...20 мл, затем открывают зажим 3 от парообразователя 2 и пропускают пар (рисунок 4). Скорость пропускания пара и нагревания колбы регулируют так, чтобы в колбе поддерживать постоянный объем жидкости от 15 до 20 мл. Отбирают 1 мл дистиллята и титруют в присутствии фенолфталеина 0,1 Н раствором NaOH.

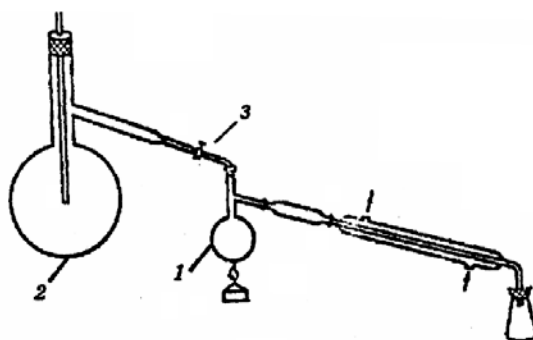


Рисунок 4 – Установка для определения ацетильных групп

1 – перегонная колба; 2 – парообразователь; 3 – зажим

Параллельно проводят холостой опыт с 20 мл раствора и 20 мл дистиллированной воды. Разница между титрованиями соответствует количеству ацетильных групп в порошке пектина ($A_{ц}$, %), содержание которых рассчитывают по формуле:

$$A_{ц} = \frac{43,04 \cdot C}{G_1 \cdot 100},$$

где C – разность между количеством 0,1 Н раствора NaOH, израсходованного на титрование в опыте с навеской и в холостом опыте, мл;

43,04 – эквивалентная масса ацетильных групп.

Опыт 7. Определение массовой доли чистого пектина в образце пектина

Содержание пектина (P_1 , %) после спиртовой обработки рассчитывают по титрометрическим данным по формуле:

$$P_1 = \frac{a \cdot 1,76 + b \cdot 1,90}{G_{нс}},$$

где b – количество 0,1 Н раствора NaOH, израсходованное на определение метоксилированных карбоксильных групп, мл; 1 мл 1 Н раствора NaOH соответствует 0,0176 г деметоксилированной галактурановой кислоты или 0,0190 г метоксилированной галактурановой кислоты.

С учетом содержания балластных веществ B , содержание пектина (P , %) рассчитывают по формуле:

$$P = P_1 \frac{G_n}{G_1},$$

где G_n – навеска пектина после промывки спиртом, г;

G_1 – навеска пектина перед промывкой спиртом, г.

Опыт 8. Определение зольности пектина

Навеску пектина массой от 1,5 до 1,8 г, взятую с точностью $\pm 0,0005$ г, осторожно сжигают в предварительно прокаленном и взвешенном тигле на газовой горелке или электроплитке до прекращения выделения продуктов сгорания. Затем тигель прокаливают в муфельной печи до полного озоления навески продукта. После взвешивания тигель повторно прокаливают в течение 30 мин., охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Если разница в массе между двумя последующими взвешиваниями превысит 0,0005 г, то прокаливание повторяют.

Массовую долю общей золы (Z , %) вычисляют по формуле:

$$Z = \frac{m - m_0}{m_1 - m_0} \cdot 100,$$

где m – масса тигля с золой, г;

m_1 – масса тигля с навеской продукта до высушивания, г;

m_0 – масса тигля, г.

Расхождения между параллельными анализами не должны превышать 0,05 %.

Для определения золы, нерастворимой в 10%-й соляной кислоте, к полученной в тигле золе приливают 30 мл 10%-й соляной кислоты и нагревают на водяной бане в течение 30 мин., после чего жидкость фильтруют через беззольный фильтр. Остаток на фильтре промывают горячей дистиллированной водой до отрицательной реакции на ион хлора. Промытый фильтр с остатком помещают в тот же тигель, подсушивают, сжигают, прокаливают в муфеле, охлаждают и взвешивают. Количество золы Z_H , нерастворимой в 10%-й HCl (в процентах), рассчитывают по формуле:

$$Z_H = \frac{m' - m_0}{m_1 - m_0} \cdot 100,$$

где m' – масса тигля с золой, нерастворимой в 10%-й соляной кислоте.

Опыт 9. Испытание желирующей способности пектина

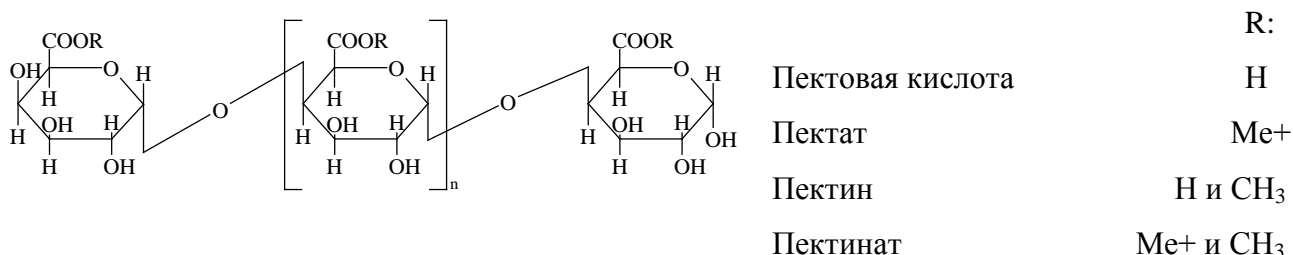
Полученный пектин заливают 50 мл воды в фарфоровой чашке, дают постоять некоторое время для набухания, затем добавляют 25 г сахарного песка и энергично кипятят на песчаной бане 15 мин. В упаренную смесь приливают 1 мл 40%-го раствора лимонной кислоты, хорошо перемешивают и разливают в плоские пластмассовые или фарфоровые формочки. Через 2,5 ч желе застывает и может быть использовано для анализа.

2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

2.1. НОМЕНКЛАТУРА И СТРУКТУРА ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Пектины представляют собой полисахариды клеточных стенок. Основным компонентом пектиновых полисахаридов являются полиуроновые кислоты. У высших растений они состоят из остатков D-галактуроновой кислоты, связанных C-1→C-4-связями, на долю которой, в зависимости от источника

происхождения пектиновых веществ, приходится от 83 до 90 %. Карбоксильная группа каждого остатка D-галактуроновой кислоты может существовать в разных состояниях: образовывать соли с ионами определенных металлов, чаще всего кальция (пектат), причем атомы двух- и трехвалентных металлов могут связывать несколько цепей полигалактуроновой кислоты; соль может быть одновременно и метоксилирована (пектинат), или оставаться немодифицированной (пектовая кислота – основа всех видов пектиновых веществ), или быть частично метоксилированной (эту форму обычно называют пектином):



Незначительную часть в составе пектиновых веществ составляют нейтральные полисахариды – арабинаны и галактаны, что и обуславливает гетерополисахаридный характер пектина. Арабинаны представляют собой разветвленные полимеры, состоящие из остатков L-арабофуранозы, соединенные между собой α -C-1 \rightarrow C-5-связями. Галактаны – неразветвленные цепи, образованные из остатков D-галактопиранозы, соединенных β -C-1 \rightarrow C-4-связями. При этом возможно, что часть карбоксильных групп галактуроновой кислоты этерифицирована указанными нейтральными полисахаридами. Молекулярная масса пектиновых веществ достигает 200 000.

Согласно современным представлениям пектин имеет линейную структуру, в которой остатки D-галактуроновой кислоты имеют пиранозную конфигурацию (рисунок 1 а).

Используют и другой способ изображения молекулы пектина, в котором отдельные кольца повернуты относительно друг друга и лежат в различных плоскостях (рисунок 1 б).

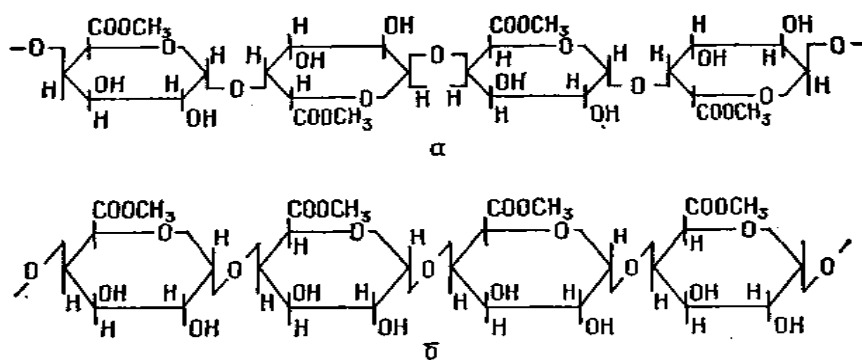


Рисунок 1 – Структурная формула пектина

В течение длительного времени не существовало четко сформулированной номенклатуры пектиновых веществ. В литературе применялось около 50 различных терминов. В настоящее время утвердилась следующая номенклатура пектиновых веществ, разработанная Комитетом Американского химического общества и официально принятая в 1944 г.:

– пектин (pectin) – водорастворимое вещество, свободное от целлюлозы и состоящее из частично или полностью метоксилированных остатков полигалактуроновой кислоты. В зависимости от количества метоксильных групп и степени полимеризации существуют различные пектины. Н-пектин (H-pectin) – высокоэтерифицированный пектин. Имеет степень этерификации, т. е. отношение числа этерифицированных карбоксильных групп на каждые 100 карбоксильных групп пектиновой кислоты, более 50 %; L-пектин (L-pectin) – низкоэтерифицированный пектин. Имеет степень этерификации менее 50 %;

– пектиновые вещества (pectic substances) – физические смеси пектинов с сопутствующими веществами (например, пентозанами и гексозанами);

– пектиновые кислоты (pectin acid) – высокомолекулярные полигалактуроновые кислоты, небольшая часть карбоксильных групп которых этерифицирована метиловым спиртом. Соли пектиновых кислот называются нормальными или кислыми пектинатами (pectinates);

– пектовые кислоты (pectic acid) – полностью деметоксилированные пектины с нетронутый цепью. Соли пектовых кислот называются нормальными или кислыми пектатами (pectates);

– протопектин (protopectin) – нерастворимый в воде природный пектин растений, состоящий в основном из сети пектиновых цепей, образованных в результате соединения многовалентных ионов металла с неэтерифицированными группами COOH (образование ионных мостиковых связей), и в незначительном количестве при помощи эфирных мостиков с H_3PO_4 ;

– производные пектина – пектины с различными группами, связанными по главным валентностям, например ацетилпектин.

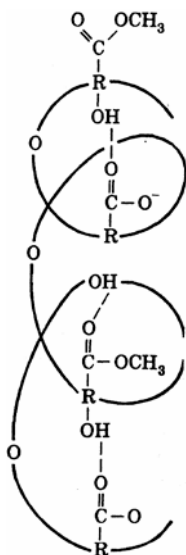


Рисунок 2 – Пространственная структура молекулы пектина

Структура и химический состав пектиновых веществ определяют пространственную форму их молекул и характер взаимодействия с другими соединениями. Установлено, что пектиновые вещества обладают структурой с ограниченной гибкостью, стабилизируемой водородными и гидрофобными связями (рисунок 2).

2.2. СВОЙСТВА ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Пектин – полисахарид с длинной спиралевидно-скрученной цепью повторяющихся единиц и высоким молекулярным весом – обладает свойствами лиофильного коллоида. В отличие от других природных коллоидов (желатин, агар-агар) золи пектина переходят в гель только в присутствии сахара и кислоты или поливалентных металлов. Пектин, выделенный из растений, в высушенном виде представляет собой порошок от белого до серо-коричневого цвета в зависимости от источника получения и степени очистки. Он не обладает запахом, слизистый при пробе на язык. Пектин растворяется в воде, особенно при нагревании, осаждается спиртом и другими органическими растворителями. При повышении температуры выше 100°C пектин разлагается. Быстрое разложение наступает в присутствии ионов хлора.

Пектиновые растворы оптически активные, правовращающие, удельное вращение постоянно при значении рН около от 3,0 до 6,5.

Характерными показателями пектина являются: молекулярный вес, метоксильное число, ацетильное число, растворимость в воде, вязкость золя, желеобразующая способность.

Ввиду того, что каждый пектин представляет собой смесь молекул с разной длиной цепи, может быть установлен только средний молекулярный вес.

Таблица 1 – Молекулярный вес пектиновых веществ

Пектин	Молекулярный вес
Яблочный	50000-200000
Цитрусовый	23000-71000
Свекловичный	62000
Корзинок подсолнечника	34000-38000
Кормового арбуза	39000
Надземная часть ревеня огородного	2300

Различия в молекулярном весе пектинов зависят не только от его источника, но и от способа получения, вызывающего различную степень деградации молекулы.

Содержание метоксильных групп является важным показателем пектиновых веществ. Степень этерификации полигалактуроновой кислоты меняется в широких пределах в зависимости от источника получения и способа извлечения – от полностью лишенной метоксильных групп (пектовой кислоты) до полностью замещенных всех карбоксильных остатков полигалактуроновой кислоты.

Пектины, полученные из разных растений, значительно различаются по степени этерификации.

Таблица 2 – Содержание метоксильных и ацетильных групп в пектиновых веществах

Пектин	Содержание метоксильных групп, %	Содержание ацетильных групп, %
Яблочный	7,15-11,4	0,30-0,69
Цитрусовый	6,90-9,60	0,24-0,50
Свекольный	3,70-5,50	0,40-2,50
Корзинок подсолнечника	5,30-6,50	нет данных

Метоксильное число имеет большое значение для желирующих свойств пектина. Для желеобразующего пектина установлена норма содержания метоксильных групп не ниже 7 %.

Значительно в меньшем количестве содержатся в пектине ацетильные группы. Ацетильное число колеблется в широких пределах: от сотых долей процента до 2,5 %. Ацетильные группы оказывают отрицательное влияние на желирование. Установлены допустимые пределы содержания ацетильных групп для студнеобразующего пектина – не более 1 %.

Наилучшим растворителем пектиновых веществ является вода. Растворяются они также в 84%-й фосфорной кислоте и жидком аммиаке; в глицерине и формамиде – набухают. В остальных органических и неорганических растворителях они практически нерастворимы.

Растворимость пектина в воде возрастает с увеличением степени этерификации и с уменьшением степени полимеризации. Из двух пектинов с одинаковой длиной цепи легче растворим тот, у которого выше метоксильное число;

из двух пектинов одинаковой степени этерификации легче растворим обладающий меньшим молекулярным весом.

Характерной особенностью пектинового золя как лиофильного коллоида является непропорционально высокое возрастание вязкости при увеличении его концентрации. Вязкость золя пектина зависит от молекулярного веса и форм молекулы пектина, вокруг которой образуется жидкостный слой (сольватация). Раствор приобретает новые механические свойства, возникает внутренняя структура золя. Возникновение коллоидной «сетки» золя обуславливает структурную вязкость, изменяющуюся при изменении давления. При повышении давления у структурированного золя вязкость быстро снижается вследствие нарушения эластичной структуры.

Характерным и важным свойством пектина является его способность давать студни в присутствии сахара и кислот, отсюда и их название (от греческого слова «пектос» – соединяющий).

Желирующая способность пектина растительного, широко используемая пищевой промышленностью, у разных растений далеко не одинакова и зависит от относительной молекулярной массы пектина, от степени метоксилирования остатков галактуроновой кислоты и количества сопутствующих балластных веществ, концентрации сахара в растворе, температуры и рН среды.

Особенно необходимо знать о наличии пектиновых веществ в тех случаях, когда пектиновые вещества накапливаются в лекарственно-сырьевых объектах в значительных количествах (ягоды клюквы, алтейский корень, солодковый корень и др.) и участвуют в суммарном лечебном эффекте, проявляемом основными действующими веществами.

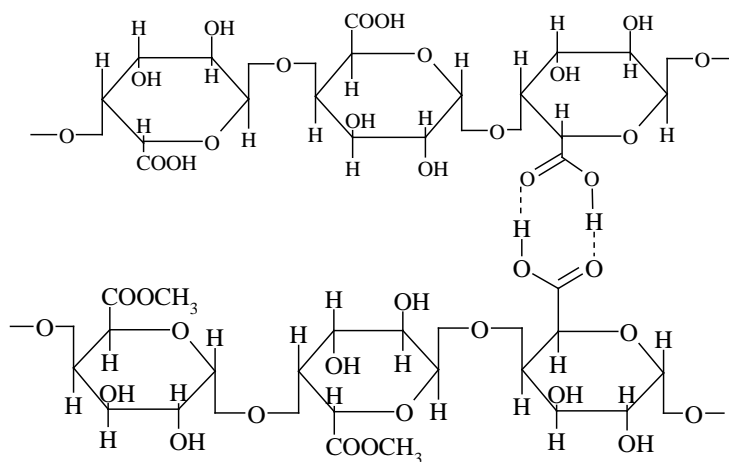
В водных растворах молекула пектина имеет форму спирали, карбоксильные группы которой расположены друг под другом. Изменения в форме молекулы пектина связаны с диссоциацией свободных и нейтрализованных карбоксильных групп. При электролитической диссоциации карбоксильные группы получают отрицательный заряд, вследствие чего между ними возникают силы отталкивания. Эти силы отталкивания выпрямляют спиральную моле-

кулу и увеличивают ее линейные размеры и вязкость. Высокая вязкость плодово-ягодных соков обуславливается в основном присутствием в них пектиновых веществ.

Пектин обладает способностью образовывать различные виды гелей. Основные два типа гелей образуются в присутствии сахара и кислоты или при взаимодействии с поливалентными металлами.

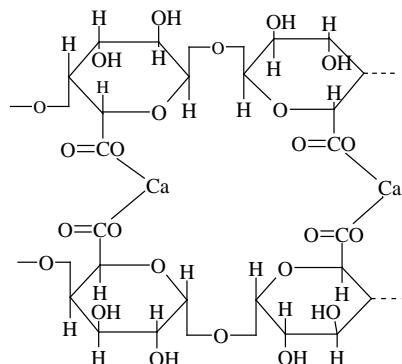
В гелях первого типа при добавлении кислоты диссоциация карбоксильных групп подавляется, чем уменьшаются силы отталкивания. Добавление сахара как дегидратирующего вещества нарушает сольватацию, наступает взаимное сближение частичек пектина – золь переходит в гель, при этом образуется сетка пектиновых молекул, в которой блокируется сахарный раствор.

Между карбоксильными и гидроксильными группами цепей пектиновой кислоты возникают водородные связи. Возможно, что водородные связи образуются также между карбоксильными и гидроксильными группами пектиновых молекул и полярными группами сахара:



Гели второго типа возникают при взаимодействии раствора низкометоксилированного пектина с ионами поливалентных металлов. Известно, что пектовая кислота и частично метоксилированная пектиновая образуют соли с металлами – пектаты и пектинаты. Соли щелочных металлов растворимы в воде, соли поливалентных металлов практически нерастворимы.

Двухвалентный кальций образует мостики между молекулами пектина через карбоксильные группы (ковалентные связи). При этом создается трехмерная структура геля, в которой удерживается блокированная жидкость:



При повышении температуры пектины разрушаются. Этот процесс сопровождается уменьшением вязкости и желирующей способности. Понижение вязкости и желирующей способности вызывается разрушением суперструктуры пектиновых веществ. Оптимальной для сушки пектиновых веществ является температура, приблизительно равная 80°C. При сушке выше этой температуры желеобразование пектина ухудшается в связи с происходящей деградацией.

Под действием кислот молекулы растворимых пектиновых веществ могут претерпевать одновременно два существенных изменения:

- а) омыление этерифицированных карбоксильных групп;
- б) разрушение молекулы вследствие разрыва гликозидной связи между остатками D-галактуроновой кислоты.

При действии сильной минеральной кислоты на высокоэтерифицированную пектиновую даже при комнатной температуре через несколько недель происходит ее омыление до нерастворимой полигалактуроновой кислоты, выпадающей в осадок. Одновременно с метоксильными омыляются и ацетильные группы пектиновой молекулы. При повышении температуры кислотное омыление происходит быстрее. При дальнейшем же повышении температуры скорость этого процесса еще более возрастает, но вместе с тем начавшийся распад макромолекул по главным валентностям увеличивается настолько, что деградация начинает преобладать над омылением.

Деградация и омыление пектиновой кислоты – два полностью независимых друг от друга процесса. Понижение значения рН способствует омылению эфирных групп, повышение температуры – разрыву гликозидных связей. Так, при температуре около 50°C может происходить омыление, которое не сопровождается значительной деградацией макромолекулы. Продолжительный кислотный гидролиз ведет к полной деградации пектиновой молекулы вплоть до галактурановой кислоты.

При концентрации кислоты от 12 до 19 % и температуре реакции до 119...145°C происходит докарбоксилирование входящей в состав пектиновых веществ D-галактурановой кислоты.

Под воздействием 12%-й соляной кислоты и температуре 140 - 150°C полиуроновые кислоты, из которых построен пектин, способны образовывать фурфурол. Процесс образования фурфуrolа складывается из трех последовательно протекающих реакций:

- а) гидролиза полиуроновой кислоты;
- б) докарбоксилирования урановой кислоты с образованием соответствующей пентозы;
- в) дегидратации пентозы с образованием фурфуrolа.

Под действием избытка щелочи протопектин разлагается. Пектиновые кислоты при этих условиях целиком деметируются. Омыление щелочью идет даже при комнатной температуре. Щелочное омыление протекает гораздо быстрее, чем кислотное; при достаточном количестве основания оно совершается за несколько часов. Одновременно с метоксильными омыляются и ацетильные группы.

Щелочь не только вызывает омыление, но может при известных условиях разрушать связи в цепи макромолекулы пектиновых веществ и изменять коллоидные свойства растворов в сторону возникновения более высокодисперсных коллоидных систем. При комнатной температуре гликозидные связи в цепи макромолекул разрушаются незначительно. При нагревании пектиновых растворов с разбавленными щелочами это разрушение происходит интенсивно.

При осторожном добавлении гидроокиси калия или натрия к разбавленным растворам пектиновых кислот образуются сначала кислые, а затем нейтральные пектинаты. Гидроокиси щелочноземельных металлов дают с пектиновыми веществами труднорастворимые осадки.

При действии окислителей пектиновые вещества разрушаются. Перекись водорода, аскорбиновая кислота, смесь перекиси водорода и аскорбиновой кислоты, хлор, иодная кислота, молекулярный кислород, метапериодат натрия вызывают разложение пектиновой молекулы.

Перекись водорода оказывает значительное деградирующее действие даже в малой концентрации. Продуктами окисления в этом случае будут двуокись углерода, муравьиная кислота и формальдегид. Катализаторами процесса являются ферросоли, гидразин, фенилгидразин и др.

Аскорбиновая кислота разрушает пектиновые вещества в присутствии кислорода. Окислительное действие аскорбиновой кислоты усиливается от прибавления метиленовой сини и перекиси водорода. В результате окисления аскорбиновой кислотой происходит разрушение суперструктуры пектиновых веществ, которое сопровождается уменьшением вязкости растворов.

Метапериодат натрия окисляет второй и третий углеродные атомы галактуроновой кислоты, образуя новые функциональные группы. При этом нарушается устойчивость гликозидной связи в щелочной среде и облегчается распад пектиновых молекул.

В присутствии сахарозы окислительный распад пектиновых веществ подавляется, т.е. сахароза является ингибитором окисления пектиновых веществ.

Отношение пектинатов к различным окислителям является важной их характеристикой, определяющей способы переработки и выделения пектинов из растительного сырья.

Карбоксильные и гидроксильные группы пектиновой или пектовой кислот могут вступать в химические реакции; полученные при этом соединения рассматриваются как соответствующие производные двух видов.

При взаимодействии пектиновых веществ с кислотами реагируют гидроксильные группы. Существуют азотнокислые, муравьинокислые эфиры пектинов, ацетилпектины, нитропектины и т.д. Гидроксильные группы пектиновых веществ могут также алкилироваться; при этом получают соответствующие простые эфиры.

При взаимодействии пектиновых веществ с метилиодидом, диметилсульфатом, diaзометаном в реакцию вступают карбоксильные группы пектиновых веществ. При обработке метиловых эфиров полигалактуроновой кислоты различной степени этерификации жидким аммиаком в атмосфере азота эфиры переводятся в соответствующие амиды. При взаимодействии метилового эфира пектиновой кислоты с гидразином получается пектиновый гидразид. При нейтрализации этого гидразида хлорной кислотой получают перхлораты.

Известны также силильные производные пектина, в которых активные атомы водорода замещены кремниевой кислотой или силильными группами.

Карбоксильные группы пектина могут восстанавливаться до первичных спиртовых групп с помощью алюмогидрида лития или боргидрида натрия. Довольно легко происходит сшивка пектиновых веществ формальдегидом в присутствии соляной кислоты как катализатора, в результате чего образуется метиллольный полуацеталь пектина.

При взаимодействии пектиновых веществ с полифункциональными соединениями образуются пространственные трехмерные структуры. В качестве связующих агентов используют диметилдихлорсилан, глиоксаль, дихлорэтилсульфамид и др.

2.3. ИЗВЛЕЧЕНИЕ ПЕКТИНА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Содержание пектиновых веществ в растительных материалах колеблется в широких пределах: от 0,1...0,5 до 50 %. Наибольшее содержание пектина в лимонных выжимках (30...35 %), в апельсиновых и мандариновых отжимах (25...30 %), околоплодниках подсолнечника (около 25 %), свекловичном жоме (20...25 %), яблочных выжимках (5...15 %). Локализованы пектиновые веще-

ства в различных частях растений неравномерно. Так, в citrusовых плодах основное количество пектинов сосредоточено в альбедо, в яблоках – в эпидермисе, колленхиме и прилегающих тканях, в сахарной свекле – в мякоти.

Для получения пектина используют свежее, сульфитированное и сушеное сырье. Сушка и сульфитирование пектиносодержащего сырья вызваны необходимостью удлинения сроков его хранения перед переработкой.

В сушеном сырье замедляются микробиологические и физико-химические процессы, в результате чего количество и качество пектиновых веществ в процессе хранения изменяются незначительно. В сульфитированном сырье в процессе хранения качество пектина ухудшается, студнеобразующая способность снижается в среднем на 18...19 %.

Сушеное растительное сырье представляет собой капиллярно-пористую систему, имеющую капилляры различных длин и диаметров. Процесс пропитки сырья происходит через поры пектоцеллюлозной оболочки клетки под влиянием капиллярных сил.

При набухании изменяются геометрические параметры сырья, оно увеличивается в размерах. Скорость набухания сырья определяет скорость поглощения экстракта сырьем, что оказывает влияние на константы массопередачи в начальный период экстрагирования. Чтобы интенсифицировать процесс экстрагирования пектина и максимально извлечь его, растительная ткань перед гидролизом должна быть в набухом состоянии, т.е. процессу гидролиза-экстрагирования пектиновых веществ из растительного сырья должен предшествовать процесс набухания сушеной растительной ткани.

По качественным показателям наиболее ценным пектинсодержащим сырьем является свежее сырье.

2.4. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

2.4.1 Методы качественного определения

а) Осаждение спиртом

Хорошо известно, что пектины осаждаются из раствора при добавлении двух или более объемов этилового спирта. При этом получается прозрачный желатинозный осадок.

В случае сильно разбавленных растворов, или частично деградированных, или имеющих низкую метоксильную составляющую, осадок получается менее желатинозным. Наиболее полно осаждение происходит при подкислении раствора соляной кислотой (конечной концентрации 5 %). В некоторых случаях, особенно при осаждении большим количеством спирта (выше 70 %), осаждаются и непектиновые вещества: пентозаны, крахмал, растительная камедь.

Если же осадок отсутствует, значит и пектиновые вещества в исходном растворе тоже отсутствуют.

б) Определение флоккуляции щелочноземельными основаниями

Пектины осаждаются при кипячении с гидроокисью кальция. Реакция состоит в деметоксилировании пектиновых кислот и последующем осаждении их в виде пектата кальция. Гидроокись бария вызывает более быструю флоккуляцию. Осаждение замедляется сахарозой. Присутствие натриевых, калиевых или аммониевых солей мешает флоккуляции.

в) Определение с применением фруктовых соков, богатых танином

Разбавленные экстракты или отжатый сок некоторых растений (яблок, груш), богатых танином, применяются в качестве очень чувствительных реактивов на пектиновые вещества. Для этой цели сок зрелых плодов, приготовленный прессованием, кипятится и фильтруется в горячем виде. Полученный реактив стабилен в течение нескольких лет, если его хранить в холодильнике под слоем толуола. Осаждение пектинов этим реактивом производится следующим

образом: к 1 мл реактива прибавляется по каплям 2 мл испытуемого раствора; раствор сначала мутнеет, а затем появляется осадок.

Этот метод обнаружения пектиновых веществ не получил широкого распространения из-за того, что еще недостаточно выяснен механизм реакции и ее специфичность.

г) Образование окраски или флуоресценции с перманганатом калия

Пектиновые вещества можно обнаружить по их реакции с 0,25%-ным раствором перманганата калия. При нагревании раствора, содержащего смесь этих веществ и перманганата калия, до температуры кипения образуется интенсивное окрашивание в золотистый цвет со слабой зеленоватой флуоресценцией. Камедь и агар дают при этой реакции красное окрашивание без флуоресценции. Механизм реакции, ее чувствительность и специфичность пока не выяснены в достаточной степени.

д) Образование желтой окраски со щелочами

К 0,5 см³ раствора, который должен содержать, по крайней мере, 0,5 % пектиновых веществ, добавляют несколько капель 2%-о раствора гидроокиси калия. При этом появляется сильное желтое окрашивание. Окраску лучше наблюдать после 15-минутного стояния при комнатной температуре. При подкислении образуется белый хлопьевидный осадок пектовой кислоты. В более концентрированном растворе образуется твердый желтый гель. Окраска не проявляется в разбавленном растворе. Альгиновая и аскорбиновая кислоты дают такую же реакцию.

е) Определение пектиновых кислот через метанол

Задача – нахождение метанола, полученного после щелочного омыления пектинов. Если при подготовке к анализу пектиновые вещества подвергаются очистке, то делают это при помощи ацетона, так как этиловый спирт мешает обнаружению метоксильных групп. К 5 мл исследуемого раствора, нагретого до температуры 70 °С, прибавляют 5 мл 10%-го раствора гидроокиси натрия. По-

сле десятиминутного отстаивания раствор подкисляется до слабокислой реакции разбавленной серной кислотой, а затем подвергается перегонке. Собираются первые 5 мл дистиллята.

В маленьком цилиндре со шлифом смешивают 0,25 мл полученного дистиллята, 4,75 мл воды и 2 мл 3%-го раствора перманганата калия, содержащего 15 % фосфорной кислоты. После 10-минутного отстаивания при периодическом помешивании к смеси прибавляют 2 мл раствора, содержащего серную и щавелевую кислоты (5 г щавелевой кислоты растворяют в 100 мл 50%-й серной кислоты), и после этого добавляют 5 мл модифицированного реактива Шиффа. Смесь перемешивается и отстаивается в течение часа в закрытом сосуде. Полученная окраска сравнивается с окраской в холостой пробе, проводимой параллельно. Если испытуемая смесь имеет более глубокую окраску, чем холостая проба, она содержит метанол, который образовался из пектиновых веществ и анализируемого образца.

Количество метанола, которое можно затем пересчитать на пектины, определяется визуально, колориметрически, фотометрически (путем сравнения с окраской растворов, содержащих определенные количества метилового спирта).

Реактив Шиффа готовится следующим образом: 0,2 г солянокислого розанилина растворяется в 20 мл горячей воды. Раствор охлаждается и в него добавляется 2 г сульфата натрия, растворенного в 20 мл воды и 2 мл соляной кислоты. Смесь разбавляется до 200 мл и выдерживается в холодильнике перед употреблением, по крайней мере, 24 ч.

Из всех методов качественного определения пектинов этот метод является наиболее сложным по исполнению; кроме того, для его проведения необходимо иметь десятки различных реактивов.

ж) Определение через галактуроновую кислоту

Определение галактуроновой кислоты в гидролизатах пектиновых веществ является удобным методом идентификации этих веществ. Пектины оса-

ждаются из раствора двойным объемом 96%-го этанола, затем растворяются в воде и гидролизуются пектиназой или соляной кислотой. Гидролизованный раствор фильтруется и исследуется на содержание D-галактурановой кислоты. Для этой цели используется реакция Толленса с нафторезорцином или ее модификация. Равные объемы растворов галактурановой и концентрированной соляной кислот нагревают 1 мин. с 1 мл 1%-го раствора нафторезорцина в этиловом спирте. После охлаждения к смеси прибавляют равный объем эфира, размешивают и оставляют стоять до образования двух слоев. В присутствии D-галактурановой кислоты эфирный слой окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Определению мешает присутствие арабинозы и фруктозы.

Приведенные методы качественного определения пектиновых веществ страдают одним общим недостатком: все они основаны на реакциях, которые не являются специфическими для пектинов, так как для этих соединений до сих пор не найдены специфические растворители, осадители, красители. Однако, соблюдая предосторожности, которые указаны при описании этих методов, всегда можно получить данные о наличии или отсутствии пектиновых веществ в объекте исследования.

2.4.2 Методы количественного определения пектиновых веществ

Количественное определение пектинов всегда производится в растворах, поэтому объект исследования должен находиться в растворенном состоянии.

Переведение в раствор пектиновых веществ, находящихся в твердых смесях, уже описывалось при изложении методов качественного определения, однако чаще приходится иметь дело с их определением в растительных объектах.

Нужно иметь в виду, что при экстрагировании пектиновых веществ из растительных материалов сравнимые результаты могут быть получены только в том случае, если пользоваться одними и теми же приемами экстракции при их строгом соблюдении.

Существуют два метода количественного извлечения пектинов из растительных материалов:

- 1) фракционное извлечение пектиновых веществ;
- 2) быстрое получение всего экстракта.

По первому методу подлежащий анализу хорошо измельченный растительный материал экстрагируется на водяной бане десятикратным количеством 95%-го этилового спирта для удаления сахаров, смолы, воска и т. д. Нерастворившийся осадок отфильтровывается, промывается 95%-м спиртом, затем смесью спирта и эфира, снова эфиром и сушится при 85°C. Обработанный таким образом материал экстрагируется в приборе, который удобен для многократных последовательных обработок (рисунок 3).

Материал помещается в сосуд А, снабженный фильтром из пористого стекла, и заливается предварительно нагретой до необходимой температуры экстракционной жидкостью. Требуемая для этого температура поддерживается при помощи водяной бани Б.

После завершения процесса жидкость при помощи водяного насоса отсасывается через трубку В в приемник. Если необходимо, проводят несколько экстракций одной и той же пробы одной или несколькими жидкостями. При этом можно собирать либо весь экстракт сразу, либо по фракциям.

При достаточном количестве раствора (около 50 мл на 1 г экстрагируемого материала) и хорошем размешивании можно извлечь 99 % пектиновых веществ за 4, 5 последовательных обработок.

Экстрагирующая жидкость выбирается в зависимости от того, в какой форме пектиновые вещества находятся в объекте исследования. Чаще всего в качестве ее применяют воду или 0,1 Н соляную кислоту.

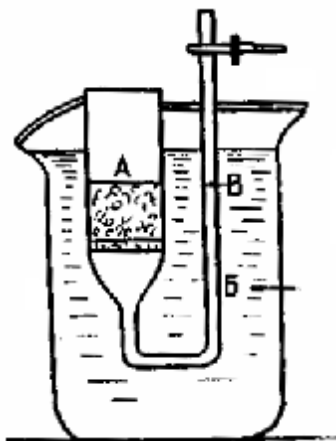


Рисунок 3 – Экстрактор Вейх-Филипса

Но если объект исследования содержит нерастворимые в воде пектинаты и пектаты, экстрагирующей жидкостью должен быть очень слабый раствор щелочи, так как при действии соляной кислоты получились бы нерастворимые низкометоксилированные пектиновые и пектовые кислоты.

По второму методу в трехлитровую колбу помещают 100 г хорошо измельченного испытуемого материала и заливают таким количеством горячей воды, чтобы при добавлении необходимого количества реактивов общий объем не превышал двух литров. Содержимое колбы нагревается на водяной бане до 88...90°C, после чего прибавляется сернистая кислота из расчета, чтобы конечная концентрация ее была 0,4...0,6 %. Экстракция длится 60 мин. при 88...90°C. После этого колба вынимается из водяной бани и быстро охлаждается струей холодной воды. Затем в нее доливается дистиллированная вода до метки 2 л, содержимое размешивается и отстаивается в полном покое. Из отстоявшегося экстракта отбирается необходимое для проведения анализа количество жидкости.

2.4.3 Количественное определение протопектина

Как известно, протопектин нерастворим в воде. Из растительной ткани или любого другого испытуемого материала сначала экстрагируются водорас-

творимые пектиновые вещества, затем образец подвергается обработке, которая переводит в растворимое состояние протопектин.

Из хорошо измельченной пробы сначала удаляются растворимые пектины путем экстракции в течение 2 ч тремя последовательными порциями холодной (от 20 до 25°C) дистиллированной воды из расчета 100 мл на 1 г пробы. Такая экстракция удаляет из образца 98 % растворимых пектиновых веществ. Оставшийся протопектин можно перевести в растворимое состояние обработкой 0,5%-м раствором оксалата аммония при 85°C в течение 2 ч или раствором соляной кислоты обычными приемами и определить методами, принятыми для пектиновой и пектовой кислот, а также для их солей.

Предлагаемый метод количественного определения протопектина является простым и доступным, но ввиду того, что граница между нерастворимыми и растворимыми пектиновыми веществами очень неопределенная, этот метод можно считать до некоторой степени условным.

2.4.4 Количественное определение пектиновых и пектовых кислот и их солей

Первой операцией при определении массовой доли пектиновых веществ в растительном сырье является извлечение и перевод в растворенное состояние.

Для этого берут навеску массой 25 г влажного или 10 г сухого исследуемого материала, тщательно растирают его в ступке до однородной массы. Количественно переносят в коническую колбу на 150 мл, смывая ступку водой, затем добавляют в колбу 100 мл дистиллированной воды с температурой 40°C. Колбу с материалом и водой выдерживают на водяной бане при температуре 40°C в течение 30 мин. По истечении этого времени содержимое колбы отфильтровывают через бумажный складчатый фильтр. Операцию повторяют, заливая твердый остаток в колбе 75 мл, а затем ещё раз 50...60 мл воды, отфильтровывая каждый раз жидкость через тот же фильтр. Полученные экстракты собирают в мерную колбу на 250 мл и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор гидратированных пектинов используют для даль-

нейших анализов.

Для определения массовой доли в растительном сырье протопектина и пектовой кислоты остаток измельченного растительного материала на фильтре заливают 50 мл 0,3 Н раствора соляной кислоты и переносят в коническую колбу на 250 мл, закрывают колбу пробкой с обратным холодильником и выдерживают 30 мин. на кипящей водяной бане. По истечении этого времени экстракт отфильтровывают через складчатый фильтр в мерную колбу на 500 мл. Остаток на фильтре 3-4 раза промывают 75 мл дистиллированной воды, промывные воды фильтруют через бумажный фильтр в ту же колбу. Фильтр вместе с остатком растительного материала переносят в коническую колбу, заливают от 50 до 70 мл 1%-го раствора лимоннокислого аммония и помещают на кипящую водяную баню на 30 мин. Полученный экстракт отфильтровывают через бумажный фильтр в ту же мерную колбу. Фильтр промывают горячей дистиллированной водой, после чего содержимое колбы охлаждают и доводят до метки.

Полученные экстракты гидратированного пектина и протопектина исследуют одним из следующих методов.

а) Кальций-пектатный метод

Метод основан на осаждении пектовых кислот в виде кальциевых солей. Это один из наиболее точных методов. Он прост, доступен и имеет хорошую сходимость параллельных анализов. В зависимости от цели исследования можно определить отдельно растворимый пектин, протопектин или сумму пектиновых веществ.

Ход анализа при определении пектинов в обоих растворах одинаков. Отличие в том, что раствор протопектина предварительно нейтрализуют NaOH до прибавления щелочи, необходимой для его гидролиза.

Для гидролиза пектиновых веществ к 50 мл исследуемого раствора прибавляют равный объем 0,4%-го (1 Н) раствора NaOH и оставляют на 8...10 ч при комнатной температуре. По истечении этого времени раствор подкисляют тем

же объемом 1 Н уксусной кислоты. Образовавшиеся пектовые кислоты осаждают 50 мл 10%-го раствора CaCO_3 . Полученный осадок пектата кальция отфильтровывают через заранее высушенный до постоянной массы и взвешенный с бюксом бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают 0,5%-м раствором CaCl_2 , затем 5, 6 раз холодной дистиллированной водой для удаления ионов хлора (проверка по реакции на Cl^- с азотнокислым серебром). Для снижения зольности осадок дополнительно промывают 3-4 раза горячей дистиллированной водой. Фильтр с осадком переносят в бюкс и сушат до постоянной массы при температуре 100...105°C. Массу осадка, полученную по разности между массой бюкса с осадком на фильтре и массой бюкса с фильтром, умножают на 0,9235 для пересчета на пектовую кислоту. Если масса пектата кальция превышает 0,03 г, опыт необходимо повторить с меньшим количеством экстракта.

Погрешность метода составляет 0,3 %. Источник ошибок: возможность перехода в осадок пектата кальция непектиновых примесей.

Если в исследуемом объекте эти вещества не находятся в растворенном состоянии, их следует перевести в раствор каким-либо из существующих методов.

б) Карбазольный метод

Метод основан на определении пектинов по образованию гидролизованного до D-галактуроновой кислоты исследуемого пектинового раствора с карбазоловым реактивом.

Пектиновый раствор подкисляют серной кислотой до pH 1,0...1,5. Затем пектины осаждают подкисленным этиловым спиртом-ректификатом с pH 4,7...4,8. Образовавшийся осадок отделяют центрифугированием при скорости 3000 об./мин. в течение 10 мин. и промывают подкисленным спиртом. Промытый осадок гидролизуют концентрированной серной кислотой, добавляют 0,2%-й спиртовой раствор карбазолового реактива и производят замер оптической плотности на фотоэлектроколориметре ФЭК-М или аналогичном при длине волны 535 нм с зеленым фильтром. Предпочтительно использовать кювету с рабочей длиной 20 мм. Отсчет на ФЭКе проводят по шкале оптической

плотности. Количество пектиновых веществ определяют с помощью калибровочной кривой, построенной по чистой D-галактурановой кислоте.

Недостаток карбазольного метода в том, что результаты часто искажены из-за недостаточно тщательной промывки пектинового осадка от сахарозы, продукты гидролиза которой (в основном глюкоза) дают с карбазолом тот же цвет, хотя и менее интенсивный, чем D-галактурановая кислота.

в) Количественное определение в растворе без демеоксилирования

Существует несколько модификаций этого метода, из которых наиболее распространены следующие.

Первый вариант метода

К 50 мл исследуемого раствора прибавляют концентрированную соляную кислоту до достижения ее конечной концентрации 0,15 Н. Затем при непрерывном, энергичном перемешивании вводят по каплям 100 мл 95%-го этилового спирта. Через 1 ч полученный осадок отфильтровывают через бумажный складчатый фильтр, тщательно промывают смесью воды и этанола (1:2), содержащей 0,2 % соляной кислоты. Промытый осадок растворяют на фильтре горячей водой. При плохой растворимости осадка к горячей воде прибавляют несколько капель щелочи. Количество фильтрата должно быть равным 50 мл. Полученный фильтрат нейтрализуют и снова осаждают этиловым спиртом. Образовавшийся осадок снова отфильтровывают, промывают сначала смесью воды с этанолом (1:2), затем 95%-м этиловым спиртом, переносят количественно горячей водой в предварительно высушенный до постоянной массы и взвешенный тигель и сушат в сушильном шкафу при температуре 100...105°C до постоянной массы. Разность между массой тигля с осадком после сушки и пустого тигля представляет собой количество пектина в 50 мл раствора.

Второй вариант метода

К 100 мл исследуемого раствора прибавляют 20 мл концентрированной соляной кислоты. Из подкисленного раствора пектин осаждают 100 мл

95%-го этилового спирта. Спустя 15 мин выпавший осадок отфильтровывают через плотное шелковое полотно, которое осторожно разворачивают и помещают в открытую широкую чашку осадком вверх. Осадок заливают 300 мл 95%-го спирта, растирают и отжимают. Такую промывку повторяют 3-4 раза до отрицательной реакции на ион хлора. После тщательного отжатия осадок переносят количественно в предварительно взвешенный пористый тигель, сушат и сжигают его. Количество пектиновых веществ определяется по разности между массами остатков после сушки и после сжигания.

Достоинством метода осаждения этиловым спиртом является его простота. Однако он недостаточно точен, так как вместе с пектином соосаждаются балластные по отношению к пектину вещества.

г) Осаждение ацетоном

К исследуемому раствору, содержащему приблизительно 0,2 % пектиновых веществ, прибавляют ацетон до его конечной концентрации в растворе 50 %. После 5 мин. отстаивания смеси осадок отфильтровывают через бумажный фильтр, количественно переносят его, смывая холодной водой, в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки. Для лучшего растворения осадка раствор подогревают. После охлаждения раствора прибавляют ацетон для осаждения пектиновых веществ. Осадок снова отфильтровывают через взвешенный беззольный фильтр, промывают 60%-м ацетоном, сушат при температуре 100°C и сжигают. Разность между массами остатков после сушки и после сжигания представляет собой количество пектина в исследуемом растворе.

Достоинство данного метода состоит в том, что получается более плотный осадок, чем при осаждении спиртом. Кроме того, ацетон легче регенерируется.

Недостатком является большая погрешность метода, так как при осаждении ацетоном в осадок могут выпадать непектиновые вещества.

д) Определение пектиновых веществ по оптическому вращению

Этот метод применим для цитрусовых пектинов. Анализ проводится следующим образом. Вначале измеряют удельное вращение исходного раствора, после чего пектиновые вещества количественно осаждают в виде медной соли и отфильтровывают. Затем измеряют удельное вращение фильтрата. Разность вращений до и после осаждения пектиновых веществ прямо пропорциональна их концентрации (удельное вращение цитрусового пектина +230 град.).

Приведенный метод определения концентрации пектиновых веществ широкого распространения не получил, так как пектины, выделенные из различных источников различными методами, имеют разные величины удельного вращений. Кроме того, медь осаждает из растворов и другие вещества, например белки. Следовательно, нужно вводить дополнительные операции по предварительной очистке испытуемого раствора от непектиновых составляющих.

е) Количественное определение пектиновых веществ в растворе, сопровождающееся демеетоксилизацией

Осаждение соляной кислотой

Пектовые кислоты осаждаются из растворов сильными минеральными кислотами. Вследствие того, что при определенных условиях растворимость пектовых кислот даже в горячей воде очень низкая, это свойство может быть использовано для количественного определения пектинов.

Сущность метода определения пектиновых веществ через пектовую кислоту путем осаждения соляной кислотой заключается в следующем. К 25 мл приблизительно 1%-го раствора пектиновых веществ прибавляют от 8 до 12 г сахарозы и осаждают 200 мл 95%-го этилового спирта. Осадок отфильтровывают, а затем растворяют на фильтре дистиллированной водой. Полученный раствор омыляют 0,2...1%-м раствором гидроокиси натрия в течение 15 мин и осаждают соляной кислотой (1:2,5) при кипячении в течение 5 мин. Выпавший осадок отфильтровывают и промывают горячей водой почти до отрицательной реакции на хлор-ион. Фильтрат должен быть прозрачным. Если это не так,

определение повторяют: омыляют пектиновый раствор более концентрированной щелочью и при более низкой температуре.

Полученный осадок смывают в тигель и высушивают сначала на паровой бане, а затем в сушильном шкафу при 98°C. Вес пектиновой кислоты определяют как разность между массами до и после определения золы.

Результаты, полученные по этому методу, обычно занижены, вероятно, вследствие деградации пектиновых веществ во время нагревания с кислотой.

Объемное измерение осадка пектовой кислоты

Этот метод заключается в омылении пектиновых веществ гидроокисью натрия, осаждении пектовой кислоты соляной кислотой и центрифугировании полученного осадка при 2400...2500 об/мин. точно 15 мин. Количество пектиновых веществ определяется по объему осадка пектовой кислоты после центрифугирования.

Метод основан на осаждении пектовых кислот сильными минеральными кислотами. К 200 мл исследуемого раствора прибавляют 2,5 мл 40%-го раствора гидроокиси натрия и оставляют при комнатной температуре в течение 15 мин. Образовавшуюся пектовую кислоту осаждают 10 мл концентрированной соляной кислоты и центрифугируют при 3000 об./мин. в течение 10 мин. в градуированной центрифужной пробирке. Пользуясь калибровочной кривой и объемом полученного осадка, определяют концентрацию пектиновых веществ. Для построения калибровочной кривой используют данные таблицы 3.

Метод достаточно точен, результаты анализов хорошо воспроизводимы. Погрешность определения 0,01 %.

Метод можно применять только для определения концентрации данного препарата, а также для приблизительного определения пектиновой кислоты в соках, так как объем осадка зависит не только от его количества, но и от размера молекулы исходной пектиновой кислоты и, следовательно, характера осадка.

Таблица 3 – Зависимость концентрации пектиновых веществ от объема осадка

Концентрация пектина, %		Объем осадка пектовой кислоты, мл
Метилловый эфир пектовой кислоты	Полигалактуронаны	
0,05	0,35	11,0
0,10	0,70	21,5
0,15	0,105	30,0
0,20	0,140	34,5
0,25	0,175	39,7
0,30	0,210	44,0

Определение при помощи титрования пектовой кислоты

Полигалактуроновая кислота, являющаяся основой всех пектиновых веществ, может быть выделена из них и оттитрована раствором основания. Данные титрования достаточно точно определяют количество пектиновых или пектовых кислот в растворе или экстракте. Первой операцией при проведении определения по этому методу является осаждение пектинов ацетоном. К исследуемому раствору прибавляют при помешивании такое количество ацетона, чтобы конечная концентрация его была равной 60 %. Смесь отстаивают несколько минут и фильтруют через бумажный складчатый фильтр. Осадок промывают на фильтре 60%-м ацетоном и смывают в тот же стакан холодной водой. Полученный водный раствор кипятится для удаления ацетона и доведения объема жидкости до 40 мл, затем его переносят в градуированный сосуд на 200 мл и охлаждают. После этого его тщательно титруют 0,1 Н гидроокисью натрия.

По окончании титрования производят щелочное омыление пектиновых веществ: к оттитрованному раствору прибавляют еще 10 мл щелочи, сосуд закрывают и отстаивают в течение 30 мин. при комнатной температуре. Избыток щелочи оттитровывают 0,1 Н соляной кислотой и прибавляют еще 50 мл 0,1 Н соляной кислоты. Содержимое перемешивают, и сосуд помещают на кипящую

водяную баню на 10 мин. Затем смесь охлаждают, содержимое сосуда доводят до 200 мл, перемешивают и отфильтровывают. Отмеренное количество фильтрата титруют 0,1 N гидроокисью натрия. В таких же условиях проводят холостой опыт. Теоретически 1 мл 0,1 N гидроокиси натрия эквивалентен 0,177 г чистой полигалактурановой или пектовой кислоты.

Приведенные методы прямые и достаточно точные. Недостатком их является длительность определения. Источником ошибок в этом случае может быть недостаточная очистка препарата пектина, выделяемого из исследуемого раствора и используемого для титрования.

3. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Как распределяются пектиновые вещества по составным частям яблок?
2. Какие факторы влияют на содержание и качество пектиновых веществ яблок?
3. Из каких технологических стадий состоит процесс получения яблочного пектина?
4. Как определяют массовую долю гидратопектина и протопектина в растительном сырье?
5. Каков принцип кальций-пектатного метода?
6. Какова техника выполнения объемного метода количественного определения пектиновых веществ?
7. Какими основными методами определяют физико-химические свойства пектиновых веществ?
8. Какой метод применяют для определения аналитических характеристик пектиновых веществ?
9. Какова сущность определения комплексообразующей способности пектина?
10. Перечислить основные качественные показатели пектина.
11. Какую роль выполняют сахар и кислота при образовании пектинового студня?
12. Как определяют степень этерификации пектина?
13. Как степень этерификации пектина влияет на его желирующие свойства?

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТАХ

Цель занятия: формирование знаний и навыков определения доброкачественности растительного сырья, содержащего флавоноиды, по результатам качественного и количественного анализа.

Задание: Ознакомиться с материалом в теоретической части лабораторного практикума. Выполнить задания практической части № 1-3. Сделать вывод по работе.

1. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Перед началом лабораторного практикума следует изучить теоретическую часть и ответить письменно на вопросы:

1. Дайте определение понятия «флавоноиды».
2. Что находится в основе классификации флавоноидов? Приведите классификацию флавоноидов.
3. Напишите формулы следующих соединений: флавона, апигенина, лютеолина, изофлавона, ононина, флавонола, кемпферола, гиперозида, кварцетина, рутина, флавонона, нарингенина, флавононола, аурана, катехина, антоцианилина.
4. Когда и кем началось изучение флавоноидов? Какой флавоноид был выделен первым? Какое растение послужило источником?
5. В каких органах растений в основном накапливаются флавоноиды?
6. Укажите факторы, влияющие на накопление флавоноидов.
7. Охарактеризуйте физико-химические свойства флавоноидов.
8. Перечислите качественные реакции на флавоноиды.
9. Охарактеризуйте сущность цианидиновой реакции.

10. Какие методы используются для количественного определения флавоноидов?

Задание № 1. Экстракция флавоноидов из растительного сырья

Выделите флавоноиды из предложенных образцов растительного сырья для проведения качественных реакций.

Методика:

1. Взвесьте 3 г сырья и поместите в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл.
2. Добавьте 30 мл 70 % этанола.
3. Проведите экстракцию на водяной бане с обратным холодильником в течение 10-15 минут.
4. Охладите и профильтруйте полученный экстракт.

Задание № 2. Качественные реакции на флавоноиды

Проведите качественные реакции на флавоноиды с экстрактом из растительного сырья. Запишите результаты наблюдений и сделайте выводы о наличии флавоноидов в полученных экстрактах.

Методика проведения опыта	Возможные результаты реакции
Цианидиновая реакция 1. Возьмите две пробирки (одна контрольная) и налейте в каждую из них по 1 мл фильтрата. 2. В одну из пробирок на кончике стеклянной лопатки добавьте порошок магния или цинка. 3. В каждую из пробирок затем добавьте несколько капель концентрированной соляной кислоты. 4. Пронаблюдайте за изменением окраски (при малом количестве флавоноидов необходимо нагревание на водяной бане в течение 10 мин)	Флавонолы, флаваноны и флавоны при восстановлении магнием (цинком) в присутствии HCl дают розовое, красное или оранжевое окрашивание, обусловленное образованием антоцианидинов. Появление розового или красного окрашивания в пробирке без металла указывает на присутствие в ней антоциановых пигментов, халконов или ауронов, которые при добавлении только одной HCl образуют красное окрашивание за счёт образования оксониевых солей.

Реакция с хлоридом алюминия К одному мл фильтрата добавьте 2-3 капли 5 % спиртового раствора хлорида алюминия	При наличии флавоноидов, имеющих две оксигруппы в С ₃ и С ₅ положениях, появляется лимонно-жёлтое окрашивание.
Реакция с хлоридом железа (III) К одному мл фильтрата добавьте 2-3 капли 1 % раствора хлорида железа (III)	Образуются окраски от зелёной (флавонолы) до коричневой (флаваноны, халконы, ауроны) и красновато-бурой (флавоны). При наличии веществ с рядовой триоксигруппировкой в кольце В появляется черно-синее окрашивание и осадок. Эту реакцию дают и другие фенольные соединения.
Реакция с ацетатом свинца средним К одному мл фильтрата добавьте 3-5 капель 1 % раствора ацетата свинца	Флавоны, халконы, ауроны, содержащие ортогидроксильные группы в кольце В образуют осадки, окрашенные в ярко-жёлтый или красный цвета. Антоцианы образуют осадки, окрашенные в красный или синий цвет.
Реакция с ванилином В пробирку к 1 мл экстракта добавить кристаллик ванилина. Затем добавьте несколько капель концентрированной соляной кислоты.	При наличии катехинов появляется малиново-красное окрашивание

Результаты качественных реакций оформите в следующем виде:

Название реакции. Методика	Результаты реакции	Заключение о наличии флавоноидов

Задание № 3. Количественное определение флавоноидов в растительном сырье

Определите количественное содержание флавоноидов в представленных образцах. Запишите кратко методику определения, рассчитайте содержание действующих веществ, дайте рекомендации по введению растительного сырья в рецептуры БАД (назначение, количество).

Методика количественного определения флавоноидов в травах

1. Пробу сырья измельчают до размеров частиц не более 1 мм.
2. Около 1 г сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70%-го спирта, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин.

3. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры под струёй холодной воды и фильтруют содержимое через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл.
4. Фильтр смывают 70%-м спиртом и доводят объём фильтрата тем же спиртом до метки. Полученный раствор будет иметь название *«раствор А»*.
5. 4 мл *«раствора А»* помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 2%-го раствора хлорида алюминия в 95%-м спирте и доводят объём до метки 95%-м спиртом.
6. Через 20 минут определяют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 410-420 нм в кювете толщиной слоя 10 мм.
7. *Раствор сравнения*: 4 мл *«раствора А»* помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 каплю разведенной HCl и доводят объём раствора до метки.
8. Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на авикулярин и абсолютно сухое сырьё в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25}{330 \cdot m \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

330 – удельный показатель поглощения комплекса авикулярина с хлоридом алюминия при 420 нм;

m – масса сырья в граммах;

W – потеря массы при высушивании в процентах.

*Методика количественного определения дубильных веществ (флавоноидов)
в ягодах*

Титриметрический метод Левенталья в модификации А. Л. Курсанова, основанный на способности дубильных веществ быстро окисляться перманганатом калия.

1. Пробу сырья измельчают до размеров частиц не более 1 мм.

2. Высушить до постоянной массы, определить потерю в массе при высушивании (W , %).

3. Около 2 г (точная навеска) измельченного и высушенного сырья, помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливают 250 мл нагретой до кипения воды и кипятят с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 мин при периодическом перемешивании.

4. Жидкость охлаждают до комнатной температуры и процеживают около 100 мл в коническую колбу вместимостью 200-250 мл через вату так, чтобы частицы сырья не попали в колбу.

5. Затем отбирают пипеткой 25 мл полученного извлечения в другую коническую колбу вместимостью 750 мл, прибавляют 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании раствором перманганата калия (0,02 моль/л) до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л) соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчете на танин.

Содержание дубильных веществ в процентах в пересчете на абсолютное сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X(\%) = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где V - объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование извлечения, в миллилитрах;

V_1 - объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование в контрольном опыте;

0,004157 - количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора перманганата калия (в пересчете на танин);

m - масса сырья в граммах;

W - потеря в массе при высушивании, %;

250 - общий объем извлечения в миллилитрах;

25 - объем извлечения взятого для титрования в миллилитрах.

2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

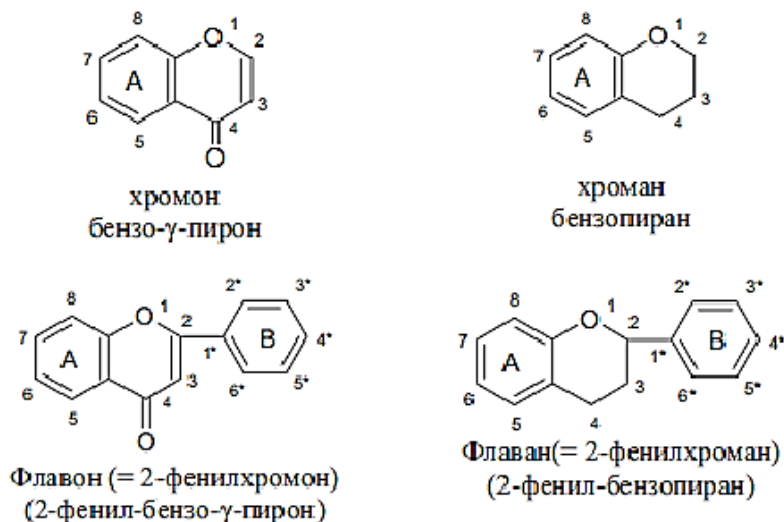
Изучение флавоноидов относится к началу XIX в., когда в 1814 г. французский исследователь Шевроле выделил из коры дуба кристаллическое вещество желтого цвета. Спустя 40 лет Риганд установил гликозидный характер этого вещества и назвал кверцетином. В 1842 г. Вайс сообщил о выделении рутина из *Ruta graveolens* (кустарник - Рута душистая). И только в 1903 г. Валяшко установил строение рутина.

Флавоноиды на протяжении последних 30 лет интенсивно изучались в лабораториях многих стран, они привлекают внимание ученых разносторонней биологической активностью и чрезвычайно низкой токсичностью. В настоящее время количество описанных в литературе выделенных из растений флавоноидов с установленной структурой достигает примерно 6500.

Флавоноиды широко распространены в растительном мире. Особенно богаты флавоноидами цветковые растения, относящиеся к семействам розоцветных (различные виды боярышника, арония (рябина) черноплодная), бобовых (софора японская, стальник полевой, виды солодки), гречишных (горцы перечный и почечуйный, спорыш птичий, гречиха посевная), сложноцветных (бессмертник песчаный, сушеница топяная, пижма обыкновенная), губоцветных (пустырники сердечный и пятилопастный) и др. Наиболее высокое содержание флавоноидов отмечено у тропических и альпийских растений. Обнаружены флавоноиды и у споровых растений (мхи, папоротники, хвощи), реже встречаются в водорослях, грибах, а также в микроорганизмах и насекомых. Локализуются флавоноиды в различных органах, но чаще в надземных: цветках, листьях, плодах; значительно меньше их в стеблях и подземных органах (солодка, шлемник байкальский, стальник полевой). Наиболее богаты флавоно-

идными соединениями молодые цветки, незрелые плоды. Содержание флавоноидов в растениях различно - в среднем 0,5-5 %, иногда достигает 20 % (в бутонах софоры японской).

Флавоноиды - многочисленная группа природных биологически активных соединений, в основе структуры которых лежит скелет, состоящий из двух бензольных колец (А и В), соединенных между собой трехуглеродной цепочкой (пропановый мостик) – $C_6-C_3-C_6$. Посредством пропанового мостика в большинстве флавоноидов образуется гетероцикл, являющийся производным пирана или *гамма*-пирона с атомом кислорода в кольце. Значительное количество флавоноидов можно рассматривать как производные 2-фенилхромана (флавана) или 2-фенилхромона (флавона).

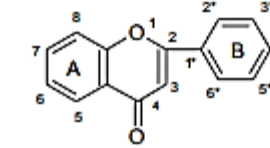
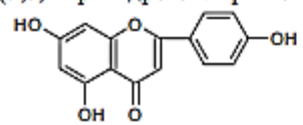
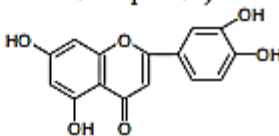
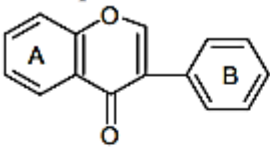
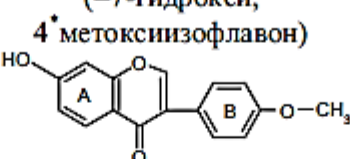
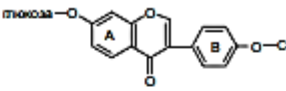
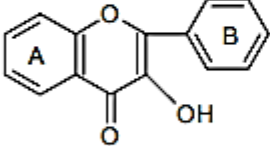
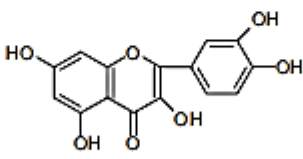
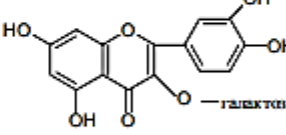
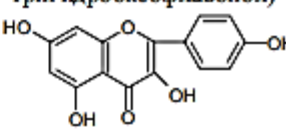
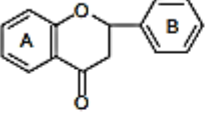
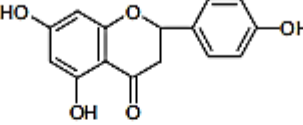
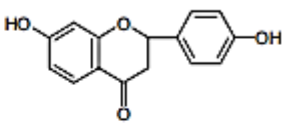
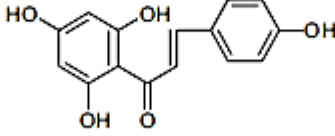


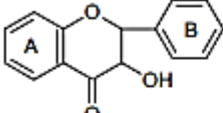
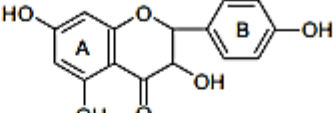
Классификация флавоноидов

Современная классификация флавоноидов основана на:

- положении бокового фенильного радикала;
- степени окисленности трёхуглеродного (пропанового) фрагмента;
- величине, наличии или отсутствии гетероцикла.

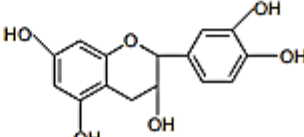
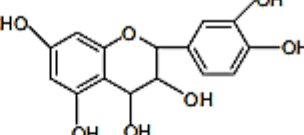
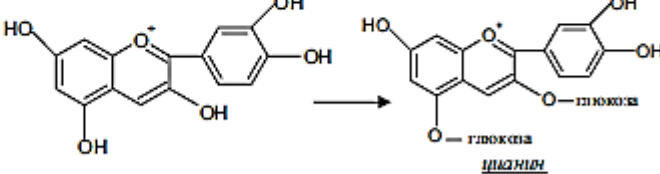
ОКИСЛЕННЫЕ ФОРМЫ

Название группы флавоноидов	Примеры	
<p>1. Флавоны</p> 	<p><i>Апигенин</i> (5,7,4[*]-тригидро-оксифлавоны)</p> 	<p><i>Лютеолин</i> (3,5,7,4[*]-тетрагидро-оксифлавоны)</p> 
<p>2. Изофлавоны</p> 	<p><i>Формонетин</i> → Гликозид <i>ононин</i> (=7-гидрокси, 4[*]-метоксиизофлавоны)</p>  	
<p>3. Флавонолы</p> 	<p><i>Кверцетин</i> → Гликозид <i>гиперозид</i> (5,7,3[*], 4[*]-тетрагидрооксо-флавонолы)</p>  	<p><i>Кемпферол</i> (5,7,4[*]-тригидрооксофлавонолы)</p> 
<p>4. Флаваноны</p>  <p>(В основе структуры лежит нестойкое дигидро-γ-пирановое кольцо)</p>	<p><i>Нарингенин</i></p>  <p>↓ NaOH</p>	<p><i>Ликвиритин</i></p> 
<p>5. Халконы Образуются из флаванонов, которые в присутствии щелочей претерпевают изменения – раскрывается нестойкое дигидро-γ-пирановое кольцо</p>	<p><i>Халкон нарингенин</i></p> 	

<p>6. Флаванолы</p> 	<p><i>Аромодендрин (дигидрокемпферол)</i></p> 
<p>7. Ауроны</p> 	<p>Особая группа флавоноидов – соединения с пятичленным гетероциклическим кольцом. В целом их можно представить как производные 2-бензилиден кумаранона или 2-бенз-фуранона. Считается, что ауроны могут образовываться из соответствующих халконов под действием обнаруженного в растениях фермента – халконазы</p>

ВОССТАНОВЛЕННЫЕ ФОРМЫ

(производные флавана)

<p>8. Катехины (флаван-3-олы)</p>	
<p>9. Лейкоантоцианидины (флаван-3,4-диола)</p>	
<p>В отличие от других флавоноидов катехины и лейкоантоцианидины, как правило, гликозилированных форм не образуют. В растениях они существуют в виде мономеров или более сложных конденсированных соединений, относящихся к дубильным веществам.</p>	
<p>10. Антоцианидины Это производные катиона флавия (2-фенилбензопирилия) Образуются из лейкоантоцианидинов при их нагревании с кислотами</p>	 <p>В растениях присутствуют как правило в виде <u>гликозидов</u></p>

Физико-химические и органолептические свойства

1. Агрегатное состояние

Твёрдые кристаллические вещества, с определенной температурой плавления (гликозиды 100 - 180°C, агликоны до 300°C).

2. Органолептические признаки

- имеют горький вкус (самым горьким является нарингенин, он в пять раз более горький, чем хинина гидрохлорид);
- запах отсутствует;
- в зависимости от структуры имеют окраску от белой до желто-оранжевой до красной.

Например:

- флаваноны, изофлавоны, катехины, лейкоантоцианидины – бесцветные;
- флавоны и флавонолы – жёлтые;
- халконы и ауроны – от ярко-жёлтого до красно-оранжевого;
- антоцианы окрашены в красный или синий цвет в зависимости от рН среды (в кислой среде они имеют оттенок красного или розового цветов, в щелочной – синего).

3. Растворимость

•Агликоны хорошо растворяются в органических растворителях: диэтиловом эфире, ацетоне, спиртах, этилацетате, но почти не растворяются в хлороформе и бензоле.

•Гликозиды флавоноидов растворяются в спиртах и спирто-водных смесях. Дигликозиды – в 50% спирте, гликозиды с тремя и более сахарами - в слабом спирте и даже воде.

4. Оптическая активность

Оптически активные вещества.

5. Способность к флуоресценции

Флавоноиды обладают способностью флуоресцировать в УФ-свете и характеризуются жёлтой, коричневой и красной флуоресценцией.

6. Способность гликозидов к гидролизу

•О-гликозиды легко разрушаются ферментами или разбавленными кислотами.

•С-гликозиды не гидролизуются ферментами и разбавленными кислотами, их гидролиз осуществляется смесью Килиани (хлористоводородная концентрированная и уксусная кислоты).

7. Способность к окислению

•Катехины и лейкоантоцианидины легко окисляются в присутствии кислорода, под действием света и щелочей.

- Остальные флавоноиды более устойчивы к окислению.

8. Кислотность

Кислотность различных флавоноидов различна.

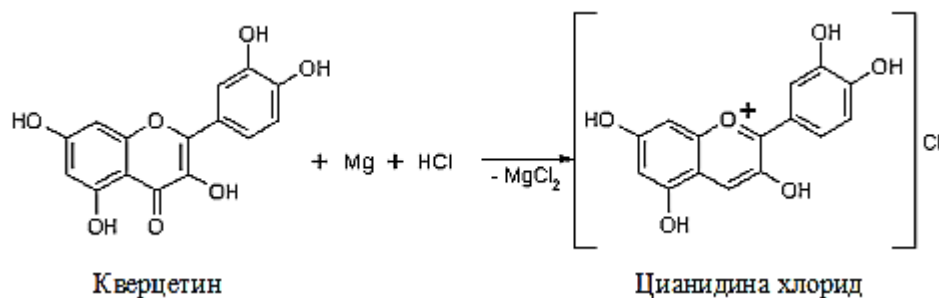
Качественные реакции

Общей реакции, специфической для всех классов флавоноидов, не существует. Наиболее часто для обнаружения этих соединений применяют цианидиновую реакцию.

1. Цианидиновая реакция (с металлическим Mg и Zn и концентрированной HCl)

Реакция основана на восстановлении флавоноидов атомарным водородом в кислой среде до антоцианидинов.

Образуется ярко-розовое, красное или оранжевое окрашивание.



2. Реакция с раствором хлорида алюминия (с 5%-ым спиртовым раствором AlCl₃)

Флавоноиды, имеющие две оксигруппы в C₃ и C₅ положениях, дают хелаты желтого цвета за счёт образования водородных связей между карбонильной и гидроксильными группами.

Раствор окрашивается в жёлтый цвет.

3. Реакция с раствором хлорида железа (III)

Образуются окраски от зелёной (флавонолы) до коричневой (флаваноны, халконы, ауруны) и красновато-бурый (флавоны).

4. Реакция с ацетатом свинца средним

Флавоны, халконы, ауроны, содержащие свободные орто-гидроксильные группы в кольце В, образуют осадки, *окрашенные в ярко-жёлтый или красный цвет*. Антоцианы образуют осадки, *окрашенные как в красный , так и в синий цвет*.

5. С 1 %-ым раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте.

Катехины образуют *малиново-красное окрашивание*.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЧАЯ

Цель занятия: формирование знаний, умений и навыков по исследованию состава и свойств различных чайных сборов.

Задание: Освоить методики определения компонентов чая и/или чайных сборов. Выполнить задания № 1-5. Сделать вывод по работе.

1. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Перед началом лабораторной работы необходимо освоить материал теоретической части и ответить письменно на вопросы:

1. В чем заключается пищевая ценность чая?
2. Каким настоем характеризуется чай высокого качества и некачественный чай?
3. Что обозначают понятия «крепость» и «цвет настоя»?
4. По каким физико-химическим показателям оценивают качество чая?
5. Дайте определение понятиям: типсы, флешы, перекисидация, разварка.
6. Опишите действие катехинов на организм человека.
7. Перечислите дефекты чая.

Задание № 1. Изучить упаковку и маркировку образцов чая/сбора

Исследовать состояние тары, правильность маркировки и массу нетто образца чая/сбора. Результаты записать в таблицу 1.

Таблица 1

Название	Состав чая/чайного сбора	Состояние тары	Показатели маркировки		Масса нетто, г	Дата сбора и упаковки	Срок годности
			по ГОСТ	фактически			

Задание 2. Провести органолептическую оценку качества чая

При органолептической оценке **качества чая** сначала определяют внешний вид (уборку) сухого сбора, а затем готовят его настой, в котором определяют аромат, вкус, интенсивность цвета, прозрачность и цвет разваренного листа.

Для оценки внешнего вида средние образцы высыпают на чистые листы бумаги и визуально определяют:

- группу чая (листовой, мелкий или гранулированный);
- однородность окраски и степень скручивания чаинок;
- наличие типсов;
- присутствие стеблей и чайной пыли, характерных для низких сортов чая и сырья позднеосеннего сбора;
- засоренность черенками, грубым листом, волокнами и другой примесью при недостаточной очистке и сортировке.

Анализ этого показателя дает представление о том, из какого сырья выработана продукция, соблюдены ли технологические режимы, особенно в процессах скручивания и сортирования чая.

Во время оценки внешнего вида чая главное внимание надо обратить на следующее: содержит ли чай золотистые типсы, красные черешки (грубые стебли), волоски древесины, нескрученные пластинки листа, другие посторонние примеси.

Наличие золотистых типсов свидетельствует о высоком качестве чая.

Серый цвет типса является результатом чрезмерного трения при скручивании листа.

Черный цвет показывает на излишнюю сушку чая.

Наличие в чае черешков (красных стеблей) или волосков древесины свидетельствуют о том, что чай выработан из грубого сырья и плохо отсортирован.

Отрицательно влияет на качество чая примесь нескрученного чайного листа. Нескрученные листья в черном байховом чае из-за плохой ферментации

сохраняют зеленый цвет и отрицательно влияют на аромат и вкус чая. В черном байховом чае могут встречаться коричневые и красноватые нескрученные листья, что объясняется опозданием в переработке чайного листа, который повреждается, не скручивается и не ферментируется.

В чае не допускается посторонняя примесь, и такой продукт считается бракованным.

Дегустацию чая проводят в специально отведенном для этих целей помещении, которое должно быть достаточно освещено, чтобы можно было установить оттенок цвета чайного настоя и разваренного листа. Дегустационным способом оценивается аромат, вкус, интенсивность настоя и цвет разваренного листа.

Приготовление настоя чая

Для этого взвешивают 3 г чая и высыпают в фарфоровый чайник. Заливают 125 см³ свежеекипящей воды, закрывают крышкой и настаивают 5 мин.

При меньшей продолжительности заварки экстрактивные вещества переходят в настой в меньшем количестве, а при большей продолжительности – вместо приятного аромата и вкуса чая может возникнуть запах и вкус древесины.

По истечении срока заварки настой из чайника сливают в специальную белую фарфоровую чашку так, чтобы разваренные чайники не попали в настой. Чайник несколько раз встряхивают для того, чтобы в чашку полностью стекли последние наиболее густые капли настоя.

В настое чая определяют его характеристику и вкус, а в чае, оставшемся после сливания в чайнике – аромат и цвет разваренного листа.

Цвет настоя

При оценке цвета настоя обращают внимание на соответствие его типу чая, густоту, интенсивность, яркость.

Яркая окраска и всегда сопутствующая ей прозрачность является надежным признаком высокого качества чая, чего нельзя сказать о цвете. Прессованные чаи не дают яркого настоя из-за большого количества в них взвешенных частиц. Темный, густоокрашенный, тусклый, непрозрачный настой – признак низкого качества чая.

Коричневый, темный, мутный цвет считается недостатком и указывает на нарушение технологического режима.

Потребители чая часто путают понятия «крепость» и «цвет настоя», считая их взаимосвязанными. На самом деле это не так.

Крепость настоя определяется количеством экстрактивных веществ в чайном листе. Так, многие сорта чая дают светлый настой, но являются более экстрактивными.

Настой чая высокого качества, богатый дубильными веществами, обладает свойством при охлаждении давать осадок экстрактивных веществ – «чайные сливки», которые представляют собой смесь катехинов и кофеина и при остывании настоя оседают на дне.

«Чайные сливки» образуют крепкие чаи. Яркий цвет сливок указывает на хорошее качество чая; тусклый цвет считается отрицательным явлением.

Определение аромата и вкуса чая

К определению вкуса и аромата чая приступают не сразу после выливания настоя, а спустя 1-1,5 мин. За это время заваренный лист в чайнике слегка остывает, что способствует лучшему улавливанию аромата. В горячем состоянии невозможно уловить действительный аромат чая. Но не следует и медлить с опробованием чая больше 1,5 мин. Чем больше остывает чай в заварнике, тем труднее уловить его аромат. При остывании аромат чая высшего качества от чая низшего качества отличить невозможно.

Для определения аромата чая быстро открывают крышку с чайника, подносят его к носу и, сильно втягивая воздух, оценивают запах.

В титестеровской практике принята специальная терминология для определения аромата доброкачественного чая:

- розанистый,
- миндальный,
- медовый,
- цитрусовый,
- смесь запахов земляники, герани и черной смородины и др.

Чай может иметь полный букет, тонкий, нежный, приятый или слабый, грубый аромат в зависимости от сорта.

Нежелательные запахи в аромате чая являются следствием нарушения технологии или неправильного хранения:

- придымленность,
- прижаристость,
- травянистый запах,
- запах сырости, затхлости, плесени, кислоты,
- различные посторонние запахи.

Терпкость и полнота вкуса настоя – признак высокой экстрактивности чаев, их высокой Р-витаминной активности.

При недостаточно выраженной терпкости чай имеет пустой «плоский» вкус, свойственный переферментированным чаям. В недоферментированном чае всегда отмечается горечь вкуса.

Чай с недостаточно вяжущим вкусом называют чаем с «безжизненным» настоем. Причинами подобного явления может быть следующее: поглощение чаем излишней влаги, высокая температура и запаривание чая при сушке.

Настой чая, полученный при правильной ферментации, сушке и хранении чая, характеризуется как «жизненный» или «живой».

Оценка цвета разваренного листа дает достоверное представление о качестве чая.

Разваренный лист переносят из чайника на его крышку, отжимают его двумя пальцами, и определяют цвет листьев и однородность их окраски.

У высококачественного черного байхового чая разваренный лист имеет яркий медный цвет. Темно-коричневый, зеленый и тусклый оттенки цвета оцениваются как дефекты.

У хорошего черного байхового чая – светло коричневый цвет; у зелёного – от зеленовато-жёлтого до тёмно-жёлтого.

Темный цвет наблюдается при излишней ферментации или чрезмерном завяливании чайного листа; зеленый цвет при недостаточной ферментации.

При определении цвета разваренного листа обращают внимание на его однородность: чем ниже сорт чая, тем менее однородный цвет.

Результаты органолептической оценки качества чая занести в таблицу 2.

Задание 4. Определение массовой доли влаги в чае/сборе

Сущность метода заключается в высушивании навески чая/сбора при определённой температуре и вычислении потери массы по отношению к массе навески до высушивания.

Массовая доля влаги чая нефасованного должна быть не более 7%, а фасованного – не более 8%. Значения выше этих показателей вызывают дефекты чая: утрачивается ароматичность, появляется плесень.

Навеску чая массой 3 г взвешивают с погрешностью не более 0,001 г в предварительно подготовленную бюксу. Открытую бюксу с пробой и крышкой помещают в сушильный шкаф, нагретый до температуры $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$. Высушивают пробу в течение одного часа, затем бюксу закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. После взвешивания пробы высушивают еще раз при такой же температуре в течение 30 минут до постоянной массы.

Содержание влаги (X_1) в процентах вычисляют по формуле (1):

$$x_1(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \times 100, \quad (1)$$

где m_1 – масса бюксы с навеской до высушивания, г;

m_2 – масса бюксы с навеской после высушивания, г;

m_3 – масса навески до высушивания, г.

Результаты занести в таблицу 2.

Задание 3. Определить содержания водорастворимых экстрактивных веществ чая/сбора

На аналитических весах с точностью до 0,0001 г взвешивают фарфоровую чашку (выпарительную), в которую переносят пипеткой 15 см³ настоя чая, приготовленного по заданию 2 (с. 100), и выпаривают на водяной бане (или на закрытой плите) до получения сухого остатка.

Сухой остаток досушивают в сушильном шкафу при температуре при 103°C в течение 2 часов и после охлаждения в эксикаторе взвешивают. Количество экстрактивных веществ (X_2) в процентах на абсолютно сухое вещество вычисляют по формуле (2):

$$x_2(\%) = \frac{a \times b \times 100}{c \times d(1 - 0,01x_1)}, \quad (2)$$

где a – масса сухого остатка, г;

b – объем заварки чая, см³, (125);

c – количество взятого для высушивания экстракта, см³,(15);

d – навеска чая, взятая для приготовления настоя, г (3);

X_1 – влажность чая, %.

Результаты занести в таблицу 2.

Таблица 2

Наименование чая/сбора	Внешний вид	Аромат и вкус	Настой	Цвет разваренного листа	Массовая доля влаги, X_1 , %	Массовая доля сухих веществ экстракта, X_2 , %	Заключение

Сделайте заключение о качестве образцов по органолептическим и физико-химическим показателям, а также о правильности маркировки, состоянии тары и соответствии массы нетто.

Задание 4. Определить и/или выделить из образцов биологически активные вещества.

4.1. Выделение кофеина

Кофеин - алкалоид пуринового ряда. Кофеин уменьшает внешнее проявление эффектов усталости.

Кофеин хорошо растворяется в полярных органических растворителях (спиртах, хлорорганике). В воде растворимость кофеина изменяется от 2,17 г/100 мл при 20 °С до 20 г/100 мл при 100 °С. Как и у других алкалоидов, растворимость кофеина в воде увеличивается в кислой среде. При температуре 230-240 °С кофеин возгоняется.

Кофеин производит ряд растений. Среди них чай, кофе, какао, мате, гуарана и многие другие. Самый богатый источник кофеина в природе - зёрна гуараны, которые содержат до 7,5% кофеина на сухую массу. Из доступных в наших широтах больше всего кофеина содержит чай - 2-4% на сухую массу листьев.

Получение кофеина из листьев чая состоит из четырёх основных стадий - экстракция чайного листа горячей водой, очистка полученного экстракта от балластных веществ, экстракция хлороформом и очистка полученного сырого продукта возгонкой.

1. Для экстракции берут 25 г чая и измельчают его (в ступке или на кофемолке).

2. В высоком стакане доводят до кипения 200 мл воды, в которую добавляют щепотку мела.

3. Сверху на стакан ставят круглодонную колбу с водой - для уменьшения испарения. Не стоит использовать для экстракции колбу с обратным холодильником - будет очень трудно достать оттуда твёрдый остаток.

4. В кипящую воду засыпают измельчённый чай и кипятят 10 минут.

5. Через 10 минут полученный экстракт в горячем виде фильтруют через марлю и отжимают.

6. Для полноты извлечения заварку экстрагируют ещё два раза по 150 мл воды. Полученные экстракты объединяют и упаривают до ~250 мл.

Следующая стадия - очистка от балластных веществ.

Основные балластные вещества в чае - танины. Танины реагируют с ионами поливалентных металлов в основной среде, и образуют практически нерастворимые соли. Для осаждения танинов из чайного экстракта используют гашёную известь.

7. Разводят чайную ложку (5 г) гашёной извести в воде и понемногу, при перемешивании добавляют в горячий экстракт до сильнощелочной реакции (проверяют лакмусовой бумагой). При этом образуется крупный, хлопьевидный осадок соединений дубильных веществ чая с кальцием. Также в щелочной среде уменьшается растворимость кофеина.

8. Для улучшения отделения осадка и уменьшения растворимости кофеина, добавляют в раствор хлорид натрия (3 г на 100 мл раствора) и при перемешивании засыпают его в горячий раствор. При этом осадок укрупняется, а мутный раствор дополнительно просветляется.

9. Фильтруют горячий раствор.

10. Полученный очищенный раствор доводят водой до 250 мл (чтобы избежать кристаллизации хлорида натрия), охлаждают и экстрагируют 10 мл хлороформа. В отличие от чайного экстракта, который не очищен от балластных веществ, этот практически не образует пены с хлороформом и быстро расслаивается.

11. Хлороформный слой сливают через воронку с несколькими граммами безводного сульфата натрия - он задерживает случайные капли воды, которые могли попасть с хлороформом.

12. Хлороформную экстракцию повторяют ещё два – три раза, до тех пор, пока сливаемый хлороформ, высыхая на поверхности воронки, не перестанет оставлять видимый сухой остаток.

13. Полученный хлороформенный экстракт помещают во взвешенную круглодонную колбу на 50 мл и отгоняют хлороформ.

14. Колбу сушат и взвешивают.

15. Рассчитывают выход чистого кофеина.

Данные занести в таблицу 3.

4.2. Определение танина

Качественная проба на танин. К 1 мл раствора чая добавить 1-2 капли хлорида железа (Ш). При наличии танина чай должен окраситься в темно – фиолетовый цвет. Результаты опыта оформить в таблицу 3.

Количественное определение.

Методика проведения анализа

Для проведения данного анализа из измельченной пробы чая предварительно получают экстракт.

2,5 г измельченного чая, взвешенного с погрешностью не более 0,0002 г, помещают в колбу вместимостью 250 мл, приливают 200 мл кипящей дистиллированной воды и ставят в кипящую водяную баню. Процесс экстрагирования танина из чая ведут в течение 45 мин. Полученный экстракт фильтруют через воронку Бюхнера (под вакуумом) в колбу вместимостью 500 мл. Затем фильтрат переводят в мерную колбу вместимостью 250 мл, охлаждают и при 20°C доводят дистиллированной водой до метки. Этот экстракт используют для проведения испытания.

Проведение испытания

Пипеткой отбирают 1 мл экстракта и помещают в чашку для выпаривания, добавляют 75 мл водопроводной воды, 2,5 мл раствора индигокармина, приготовленного растворением 1 г препарата индигокармина в 50 мл концентрированной серной кислоты и доведением объема дистиллированной водой до 1000 мл и титруют 0,1 н. раствором марганцовокислого калия при постоянном перемешивании стеклянной палочкой. Синяя окраска при этом постепенно переходит через сине-зеленую, темно- и светло-зеленую в желтую золотистого оттенка.

Конец реакции определяют по исчезновению зеленого оттенка и появлению чистого желтого цвета. Аналогичным образом проводят титрование водопроводной воды в присутствии индикатора индигокармина.

Количество танина (Т, %) находят по формуле (3):

$$T = \frac{(a - a_1) \cdot 0,004157 \cdot n \cdot 100}{n_1 \cdot m}, \quad (3)$$

где a – количество 0,1 н. раствора марганцовокислого калия, израсходованное на окисление танина, мл;

a_1 – количество 0,1 н. раствора марганцовокислого калия, израсходованное на титрование воды и индигокармина, мл;

0,004157 – количество танина, окисляемое 1 мл 0,1 н. раствора марганцовокислого калия, г;

n – количество полученного экстракта чая, мл;

n_1 – количество экстракта чая, взятое для испытания, мл;

m – масса навески абсолютно сухого чая, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать 0,5 % при доверительной вероятности $P = 0,95$.

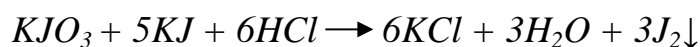
Если результат анализа примерно равен значению нормы содержания танина для соответствующего вида чая, то необходимо проведение двух дополнительных определений. В этом случае за результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать 0,7 % при $P = 0,95$.

4.3. Определение рН среды различных сортов чая/сборов

В пробирку с экстрактом образцов опустить универсальную индикаторную бумажку для определения рН и сравнить её со шкалой, полученные результаты занести в таблицу 3.

4.4. Определение витамина С йодометрическим титрованием

Метод основан на том, что при взаимодействии йодида и йодата калия в кислой среде выделяется йод:



Образовавшийся йод окисляет аскорбиновую кислоту в дегидроаскорбиновую. В качестве индикатора реакции используется раствор крахмала. Как только вся аскорбиновая кислота прореагирует с йодом, следующая его капля окрасит раствор крахмала в синий цвет.

Материалы, реактивы, оборудование. Фильтрат чая/сбора, дистиллированная вода, 2%-й раствор соляной кислоты HCl, 1%-й раствор йодистого калия KI, 0,5%-й раствор крахмала, 0,001 н. раствор йодата калия KJO₃, который при отсутствии стандарт-титра готовят из маточного 0,01 н. раствора, стаканчики или конические колбы на 50 – 100 мл, пипетки на 1 и 2 мл, цилиндры на 25 мл, титровальная установка.

Для приготовления маточного 0,01 н. раствора йодата калия берут навеску 0,3568 г йодата, предварительно высушенного в течение 3 часов при 100°C, растворяют в мерной колбе на 1 л. В день анализа готовят раствор 0,001 н. йодата калия для титрования: 100 мл маточного раствора доводят водой до метки в мерной колбе на 1 л. 1 мл 0,001 н. раствора йодата калия соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты.

Техника определения

В стаканчики отбирают пипеткой 20 мл фильтрата чая/сбора, доливают 1 мл 2%-й HCl, 0,5 мл 1%-го KI, 2 мл 0,5%-го раствора крахмала, смесь перемешивают и титруют 0,001 н. раствора KJO₃ до устойчивого синего окрашивания. Параллельно ведут контрольное титрование (вместо чая берут 20 мл воды). Результаты занести в таблицу 3.

Запись в лабораторном журнале

Количество 0,001 н. раствора йодата калия, израсходованное на титрование исследуемой пробы (V), мл.

Количество 0,001 н. раствора йодата калия, израсходованное на титрование в контрольном опыте (V_1), мл.

Количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл точно 0,001 н. раствора йодата калия: 0,088 мг.

Объем пробы, взятый на титрование: 20 мл.

Содержание аскорбиновой кислоты (X), %, находим по формуле (4):

$$X = \frac{(V - V_1) \times 0,088 \times 100}{20}, \quad (4)$$

Таблица 3 - Результаты лабораторных испытаний

Наименование образца	Витамин С, %	Выход кофеина, %	pH среды	Танин, Т, %

Заключение

Материальное обеспечение занятия

1. Натуральные образцы разных видов чая.
2. Листы белой бумаги.
3. Фарфоровые чашки.
4. Чайные ложки.
5. Сушильный шкаф с температурой $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$.
6. Сушильный шкаф с температурой $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$.
7. Чашки фарфоровые выпарительные.
8. Бюксы.
9. Эксикатор.
10. Пипетки на 10, 25 см³.
11. Весы аналитические и технические.
12. Асбестовые сетки.
13. Электрическая плита.
14. Электрочайник.

2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ (СПРАВОЧНЫЙ) МАТЕРИАЛ

Чай – это один из самых древних напитков, употребляемых человеком. Чай имеет высокие вкусовые качества и тонкий изысканный аромат, обладает хорошим стимулирующим и лечебным действием на организм человека. БАДы чайной производственной группы, помимо лекарственных растений чаще всего содержат в своём составе зелёный чай.

Основная ценность чая обусловлена содержанием в нем алкалоида кофеина и дубильных веществ (танино–катехиновой смеси). Кроме того, в чае содержатся белковые вещества, пигменты, эфирные масла, витамины и минеральные вещества.

Одним из важных показателей качества готового чая является содержание в нем водорастворимых экстрактивных веществ, переходящих при заваривании в настой. Их количество зависит от вида и сорта чая: чем выше сорт, тем больше их содержание (28-40%).

Чай получают путём специальной переработки верхних частей побегов (флешей) вечнозеленого чайного растения семейства чайных.

Чайное растение имеет блестящие тёмно-зелёные овальные листья с короткими черешками. На нижней стороне листа находятся серебристо-белые волоски, называемые по-китайски бай-хоа (белая ресничка), откуда и произошло название рассыпного чая. Больше всего волосков бывает на верхних нежных листках и почке. При скручивании чайного листа выделяющийся клеточный сок оседает на волосках и ферментируется, придавая почке и верхнему нежному листку золотистый цвет. Чем выше в чае содержание золотистых чаинок – типсов, тем выше его качество.

Классификация чая

В зависимости от исходного сырья и технологии переработки чай вырабатывают следующих видов и типов:

1. **Байховый** (рассыпной) – (черный, зеленый, красный, желтый, белый), который делится на листовую и мелкий;

2. **Гранулированный** – (черный и зеленый), подразделяющийся на три группы: из крупных листьев, из чайной крошки и чайной пыли;

3. **Прессованный** – (черный и зеленый), который делится на плиточный, кирпичный и таблетированный;

4. **Экстрагированный** – (черный и зеленый), который делится на концентрированный жидкий и сухой экстракты;

5. **Ароматизированный** - (черный, зеленый, желтый, красный) – байховый чай с добавлением натуральных или искусственных ароматизаторов.

В зависимости от степени ферментации чайного листа чай подразделяют на типы:

- зелёный и белый - неферментированные;
- чёрный – ферментированный;
- жёлтый и красный – слабоферментированные.

В зависимости от места выращивания различают чай:

- индийский (в мире знамениты три вида: Ассам, Дарджилинг и Нилгири);
- цейлонский (делят на три категории в зависимости от произрастания чайного растения: низкий уровень – до 600 м над уровнем моря, средний уровень -600-1200 м, высокий уровень – от 1200 м и выше);
- китайский (самые известные чаи – Юньнаньский и Фуцзяньский);
- кенийский (чайные плантации расположены на высоте 1500-2700 м над уровнем моря);
- грузинский (лучшим считается «Букет Грузии»);
- российский (русский или краснодарский);
- японский и др.

Чай зеленый

Приятные вкусовые и ароматические свойства чая обусловлены его богатым химическим составом. В чае содержится более 100 БАВ, взаимосвязанных между собой и образующих единый комплекс, благодаря которому системати-

ческое употребление этого напитка оказывает благоприятное действие на организм в целом, нормализуя обмен веществ.

Чай является источником витаминов и минеральных веществ. В нем найдено более 20 аминокислот (все незаменимые), содержатся углеводы и пектиновые вещества, органические кислоты и смолы, эфирные масла и другие соединения, формирующие чайный аромат. Чайное растение синтезирует в больших количествах катехины и другие полифенолы, обладающие свойствами витамина Р, накапливает аскорбиновую кислоту, тиамин, рибофлавин, никотиновую, пантотеновую и фолиевую кислоты, каротиноиды.

Содержащиеся в чае антиокислители предохраняют организм от перекисидации - процесса самоокисления внутриклеточного и тканевого жира, продукты которого (перекиси) не только снижают функцию клетки, но и могут привести к ее гибели. Катехины чая почти полностью ликвидируют вредное воздействие на организм стронция-90 при радиоактивных осадках: адсорбируя изотоп, катехины выводят его из организма прежде, чем он успевает дойти до костного мозга. Катехины также стимулируют холестеринный обмен.

Чайный лист состоит из воды и сухого вещества. В зеленых листьях чая, т.е. в сырье, 73-81% составляет вода и лишь 19-27% - сухие вещества, в готовом чае, наоборот, на долю воды приходится 3-7%, а сухих веществ – 93-97%.

Сухие вещества делятся на две группы: растворимые и нерастворимые в воде. Водорастворимую фракцию сухого вещества в технологии чая называют экстрактивными веществами, или экстрактом. Нерастворимая фракция – балластные вещества, остающиеся в разваренном листе в виде остатка после заваривания. В технологии чая эту часть называют разваркой. От количественного соотношения этих веществ в сырье зависит качество готовой продукции.

Химический состав сухого вещества чайного листа представлен в таблице 4.

Таблица 4 – Общий химический состав чайного листа, % сухого вещества

Показатель	Содержание
1	2
Экстрактивные вещества, в т.ч.	41-58
Фенольные соединения: катехины, теогаллин, хлорогеновая кислота и др.	14-26
Углеводы	4-5
Производные пурина: кофеин, гуанин, аденин, теофиллин, теобромин	2-4
Минеральные вещества: К, Са, Mg, Fe, Si, Na, Al, Mn, Sr, Ni, Cu, Zn, Ba, Rb, Ti, Cr, Sn, Ag, V, J и др.	3-4
Аминокислоты	1-2
Органические кислоты: щавелевая, яблочная, янтарная, лимонная, молочная, шикимовая, парокумаровая, фенолкарболовые и др.	1
Прочие растворимые вещества: водорастворимые витамины В ₁ , В ₂ , В ₃ , С, РР, U, Р; азотистые вещества (растворимые в воде белки); ферменты (оксидоредуктазы, гидролазы); ароматические вещества; спирты; пигменты	10-12
Балластные вещества, в т.ч.	42-59
Белки	20-22
Нерастворимые углеводы: целлюлоза, крахмал, гемицеллюлоза	5-18
Пектиновые вещества (протопектин)	8-9
Лигнин	6-7
Смолы	2-3
Прочие нерастворимые вещества: нерастворимые (соединенные с белками) дубильные вещества; жирорастворимые витамины А, К, Е; нерастворимые минеральные вещества; органические кислоты (щавелевая, хинная и др.); нерастворимые ферменты (соединенные с нерастворимой частью клетчатки); хлорофилл	1-2

Дефекты чая

При нарушении процессов производства и при хранении формируются различные дефекты чая, в том числе:

- засоренность (черешками, грубым листом, волокнами и другой примесью) возникает в результате сбора с кустов грубого чайного листа, в том числе при машинной уборке и недостаточной очистке при сортировке;
- мешанный чай получается в результате плохой сортировки или плохого подбора по однородности при купаже;
- кислый вкус и запах возникают из-за нарушения процесса и длительности ферментации, сушки;

- жаристый чай формируется в результате неправильной сушки (высокая температура и медленное продвижение чая в сушильном аппарате);
- серый цвет типса — это результат чрезмерного трения при сухой сортировке чая и продолжительном скручивании листа;
- мутный настой появляется вследствие переферментации чая;
- «водянистый», «пустой» вкус настоя может быть из-за чрезмерно слабого скручивания или слишком длительной ферментации чайного листа;
- безжизненный настой (чай с недостаточно вяжущим вкусом) появляется в результате повышенной влажности листа и «запаривания» чая при сушке;
- зелень чая (присутствие аромата «зелени» и горьковатого вкуса) возникает в результате недостаточной ферментации;
- черный цвет типса бывает характерным для чая майского и июньского сборов и при излишней сушке листа;
- темный цвет разваренного листа проявляется вследствие излишней ферментации и чрезмерного завяливания;
- пестрый цвет разваренного листа формируется при переработке и сортировке неоднородного материала;
- затхлый, плесневелый и другие посторонние запахи возникают из-за нарушения технологии хранения чайного листа и повышенной влажности (более 9%) чая при хранении. Такой чай к употреблению непригоден.

Сохраняемость исходных свойств чая в первую очередь определяется степенью герметичности, чистотой упаковки и отсутствием в ней постороннего запаха, а также соответствием условий хранения свойствам чая как коллоидно-капиллярно-пористого тела.

Фальсификация чая

Наиболее широко применяется фальсификация чая при его производстве. В высококачественный чай добавляют низкосортное сырье, полученное из

более грубых листьев. При незначительных добавках такого сырья фальсификацию установить невозможно.

Другой способ фальсификации – полная или частичная замена натурального продукта спитым чаем, высушенными листьями кипрея, вишни, тополя, ивы, камелии и др. Такую фальсификацию можно определить путем органолептической оценки.

Широкое распространение получила фальсификация, состоящая в замене высших сортов чая низшими сортами того же или другого наименования. Иногда сухой чай подкрашивают колером или другими красящими веществами. При перемешивании чая с холодной водой эти красители окрашивают воду.

10. FOLIA FARFARAE (ЛИСТЬЯ МАТЬ-И-МАЧЕХИ, FOLIA TUSSILAGINIS FARFARAE)

Собранные в первой половине лета и высушенные листья дикорастущего многолетнего травянистого растения мать-и-мачехи обыкновенной - *Tussilago farfara* L., сем. астровых - *Asteraceae*.

Внешние признаки

Цельное сырье. Смесь цельных или частично измельченных листьев. Листья округлосердцевидные, по краю выемчатые и неравномерно редко- и мелкозубчатые, сверху голые, снизу беловойлочные от обилия спутанных длинных волосков. Черешки тонкие, сверху желобоватые часто с сохранившимся войлочным опушением. Длина листовой пластинки обычно 8-15 см, ширина около 10 см, длина черешка около 5 см. Листья не должны быть слишком молодыми, т. е. не должны иметь густого опушения на верхней стороне. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, с нижней - беловато-серый. Запах отсутствует. Вкус слабо-горьковатый с ощущением слизистости.

Измельченное сырье. Кусочки листьев различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет серовато-зеленый. Запах отсутствует. Вкус слабо-горьковатый с ощущением слизистости.

Микроскопия

При рассмотрении верхней стороны листа с поверхности видно, что эпидермис состоит из крупных многоугольных клеток с прямыми, нередко четковидно-утолщенными боковыми стенками. Над жилками эпидермальные клетки вытянуты, остальные - изодиаметрические. Кутикула толстая, морщинисто складчатая, над жилками продольно-складчатая. Клетки нижнего эпидермиса мелкие с сильно извилистыми стенками. Кутикула тонкая, морщинисто-складчатая, над жилками продольно-складчатая. Над воздухоносными полостями эпидермис приподнят, здесь расположены 1-2 устьица. Устьица крупные,

овальные, аномоцитного типа. На верхней стороне листа устьица встречаются редко, имеют 4-5 околоустьичных клеток; на нижней многочисленные с 7-9 околоустьичными клетками, расположенными радиально. На обеих сторонах листа кутикула образует вокруг устьиц радиальную складчатость. Верхняя сторона листа почти голая, нижняя - покрыта многочисленными простыми волосками. Волоски состоят из короткого основания, образованного 3-6 небольшими клетками и длинной конечной, шнуровидной, сильно извилистой клетки. Волоски переплетаются между собой.

Губчатая ткань имеет характер аэренхимы - ее клетки расположены однорядными цепочками, образующими крупные воздухоносные полости.

Числовые показатели

Цельное сырье. Влажность не более 13%; золы общей не более 20%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 10%; листьев побуревших и с бурыми пятнами ржавчины не более 8%; органической примеси не более 2%; минеральной примеси не более 2%.

Измельченное сырье. Влажность не более 13%; золы общей не более 20%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 10%; кусочков побуревших листьев и с бурыми пятнами ржавчины не более 8%; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм, не более 20%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, не более 5%; органической примеси не более 2%; минеральной примеси не более 1%.

Упаковка

Цельное сырье упаковывают в мешки тканевые или льно-джуто-кенафные не более 20 кг нетто или в тюки из ткани не более 50 кг нетто. Измельченное сырье фасуют по 100 г в пачки картонные 11-1-4. **Срок годности 3 года.** Отхаркивающее средство.

18. FOLIA MENTHAЕ PIPERITAE (ЛИСТЬЯ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ)

Собранные в фазу цветения механизированным способом и обмолоченные, высушенные листья многолетнего культивируемого травянистого растения мяты перечной - *Mentha piperita* L., сем. яснотковых - Lamiaceae.

Внешние признаки

Кусочки листьев различной формы, размером до 10 мм и более с примесью цветков и бутонов. Край листа пильчатый с неравными острыми зубцами; поверхность голая, лишь снизу по жилкам под лупой заметны редкие, прижатые волоски и по всей пластинке листа - блестящие золотисто-желтые или более темные железки.

Цвет листьев от светло-зеленого до темно-зеленого. Запах сильный, ароматный. Вкус слегка жгучий, охлаждающий.

Микроскопия

При рассмотрении листа с верхней и нижней стороны видны клетки эпидермиса с сильно извилистыми стенками, устьица с двумя околоустьичными клетками, расположенными перпендикулярно продольной оси устьица (диацильный тип). По жилкам и по краю листа видны простые 2-4-клеточные волоски с бородавчатой кутикулой. По всей поверхности имеются мелкие головчатые волоски, состоящие из короткой одноклеточной ножки и одноклеточной обратнойцевидной головки. В небольших углублениях с обеих сторон листа видны эфиромасличные железки; они имеют короткую ножку и округлую головку, состоящую из 8, редко 6 радиально расположенных выделительных клеток (не всегда ясно заметных).

Числовые показатели

Эфирного масла не менее 1%; влажность не более 14%; золы общей не более 14%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 6%; почерневших листьев не более 5%; стеблей не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, не более 8%; органической примеси не более 3%; минеральной примеси не более 1%.

Количественное определение Содержание эфирного масла определяют в 30 г сырья методами 1 или 2. Навеску сырья помещают в колбу вместимостью 1000 мл и заливают 500 мл воды (ГФ XI, вып. 1, с. 290). Время перегонки 1 ч.

Упаковка

Сырье упаковывают в мешки тканевые или льно-джуто-кенафные не более 20 кг нетто или в тюки из ткани не более 50 кг нетто. Листья мяты фасуют по 100 г в пачки картонные 11-1-4 или 12-1-4. **Срок годности** 2 года. Спазмолитическое и желчегонное средство.

7. FLORES CHAMOMILLAE (ЦВЕТКИ РОМАШКИ, FLORES CHAMOMILLAE RECUTITAE)

Собранные в начале цветения и высушенные цветки (цветочные корзинки) культивируемого и дикорастущего однолетнего травянистого растения ромашки аптечной (ромашки ободранной) - *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert (*Matricaria recutita* L., *M. chamomilla* L.), сем. астровых - Asteraceae.

Внешние признаки

Цельные или частично осыпавшиеся цветочные корзинки полушаровидной или конической формы, без цветоносов или с остатками их не длиннее 3 см. Корзинка состоит из краевых язычковых пестичных и срединных обоюполюх трубчатых цветков. Цветоложе голое, мелкоямчатое, полое, в начале цветения полушаровидное, к концу - коническое. Обертка корзинки черепитчатая, многорядная, состоящая из многочисленных продолговатых, с тупыми верхушками и широкими пленчатыми краями листочков. Размер корзинки (без язычковых цветков) 4-8 мм в поперечнике.

Цвет язычковых цветков белый, трубчатых - желтый, обертки - желтовато-зеленый. Запах сильный, ароматный. Вкус пряный, горьковатый, слегка слизистый..

Микроскопия

При рассмотрении частей цветочной корзинки видны вытянутые с извилистыми стенками клетки эпидермиса трубчатых цветков; эпидермис верхней

(внутренней) стороны язычковых цветков имеет сосочковидные выросты, эпидермис листочка обертки состоит из сильно вытянутых клеток с утолщенными стенками, пронизанными многочисленными порами. На поверхности язычковых и особенно трубчатых цветков, а также на листочках обертки имеются эфиромасличные железки, состоящие из 6-8 клеток, расположенных в два ряда и в 3-4 яруса. Вдоль центральной жилки листочка обертки и в цветоложе проходят секреторные ходы с маслянистым желтоватым содержимым. В мезофилле трубчатых цветков содержатся мелкие друзы оксалата кальция.

Числовые показатели

Эфирного масла не менее 0,3%; влажность не более 14%; золы общей не более 12%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 4%; листьев, стеблей, корзинок с остатками цветоносов длиннее 3 см не более 9%; корзинок почерневших и побуревших не более 5%; органической примеси (части других неядовитых растений и корзинки других видов ромашки) не более 3%; минеральной примеси не более 0,5%.

Примечание. К органической примеси относят соцветия растений, похожих по внешнему виду на ромашку аптечную, но не являющихся лекарственными: ромашки непахучей - *Matricaria inodora* L., которая в отличие от ромашки аптечной имеет сплошное цветоложе и более крупные корзинки (до 12 мм), пупавки полевой - *Anthemis arvensis* L., имеющей пленчатое цветоложе, и пупавки собачьей - *Anthemis cotula* L., у которой цветоложе пленчатое только сверху.

Количественное определение

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Содержание эфирного масла определяют в 15 г измельченного сырья методами 1 или 2 (ГФ XI, вып. 1, с. 290).
Время перегонки 2 ч.

Упаковка

В ящики из гофрированного картона или из листовых древесных материалов не более 20 кг нетто или в мешки бумажные непропитанные не более 8 кг

нетто. Цветки ромашки фасуют по 100 г в пачки картонные 11-1-4 или 12-1-4.
Срок годности 1 год. Противовоспалительное и спазмолитическое средство.

73. RHIZOMATA ET RADICES INULAE (КОРНЕВИЩА И КОРНИ ДЕВЯСИЛА, RHIZOMATA ET RADICES INULAE HELENII)

Собранные осенью и высушенные корневища и корни дикорастущего многолетнего травянистого растения девясила высокого - *Inula helenium* L., сем. астровых - *Asteraceae*.

Внешние признаки

Цельное сырье. Корневища и корни цилиндрические, большей частью продольно-расщепленные, снаружи продольно-мелкоморщинистые, длиной 2-20 см, толщиной 0,5-3 см, твердые, в изломе слабозернистые, с заметными буроватыми блестящими точечками - вместилища с эфирным маслом (под лупой 10х).

Цвет снаружи серовато-бурый, на изломе - желтовато-белый или желтовато-серый. Запах ароматный. Вкус пряный, горьковатый.

Измельченное сырье. Кусочки корней и корневищ различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет серовато-бурый, желтовато-белый, желтовато-серый. Запах ароматный. Вкус пряный, горьковатый.

Микроскопия

На поперечном срезе корня видна многорядная серовато-бурая пробка, кора и древесина. Паренхима коры состоит из крупных клеток, содержащих инулин в виде бесформенных, бесцветных, сильно преломляющих свет "глыбок" (смотреть препарат без нагревания!). Во вторичной коре заметны участки луба в виде мелких клеток, расположенных небольшими группами. Линия камбия четкая. В древесине видны крупные сосуды, особенно близ камбия, расположенные группами. В коре и древесине корня имеются крупные схизогенные вместилища со смолой и эфирным маслом. Они округлые или овальные, с хорошо заметным слоем выделительных клеток. После окраски раствором Судана

III капли смолистого содержимого во вместилищах приобретают яркий оранжево-красный цвет.

Качественные реакции

При нанесении на поперечный срез корневища 2-3 капель раствора йода не должно наблюдаться синего окрашивания (крахмал).

При нанесении на поперечный срез 2-3 капель 20%-го спиртового раствора а-нафтола или тимола и 1 капли концентрированной серной кислоты должно наблюдаться красно-фиолетовое или оранжево-красное окрашивание соответственно (инулин) .

Числовые показатели

Цельное сырье. Влажность не более 13%; золы общей не более 10%; дряблых корневищ и корней, оснований стеблей и других частей девясила не более 5%; корневищ и корней, потемневших в изломе, не более 5%; кусков корней длиной менее 2 см не более 5%; органической примеси не более 0,5%; минеральной примеси не более 1%.

Измельченное сырье. Влажность не более 13%; золы общей не более 10%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 4%; кусочков корневищ и корней, потемневших на изломе, не более 5%; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм, не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, не более 10%; органической примеси не более 0,5%; минеральной примеси не более 1%.

Упаковка

Цельное сырье упаковывают в тюки из ткани не более 50 кг нетто или в мешки тканевые или льно-джуто-кенафные не более 30 кг нетто; измельченное - в мешки тканевые или льно-джуто-кенафные не более 30 кг нетто. Измельченное сырье фасуют по 75 г в пакеты бумажные типа II с последующим вложением в пачки картонные 3-1-4 или по 100 г в пакеты типа II с последующим вложением в пачки 8-1-4. Отхаркивающее средство.

50. HERBA EQUISETI ARVENSIS (ТРАВА ХВОЩА ПОЛЕВОГО)

Собранные в течение лета и высушенные надземные вегетативные побеги дикорастущего многолетнего травянистого растения хвоща полевого - *Equisetum arvense* L., сем. хвощевых - Equisetaceae.

Внешние признаки

Цельное сырье. Цельные и частично измельченные стебли длиной до 30 см, жесткие, членистые, бороздчатые, с 6-18 продольными ребрышками, почти от основания мутовчато-ветвистые, с полыми междуузлиями и утолщениями в узлах. Ветви неразветвленные, членистые, косо вверх направленные, четырех-пятигранные, без полости. Влагалища стеблей цилиндрические, длиной 4-8 мм, с треугольно-ланцетными, темно-бурыми, белоокаймленными по краю зубцами, спаянными по 2-3. Влагалища веточек зеленые с 4-5 коричневатыми длиннооттянутыми зубчиками. При обрывании ветвей на стебле удерживаются только первые короткие членики.

Цвет серовато-зеленый. Запах слабый. Вкус слегка кисловатый.

Измельченное сырье. Кусочки стеблей и ветвей частично с узлами и влагалищами, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет серовато-зеленый. Запах слабый. Вкус слегка кисловатый.

Микроскопия

При рассмотрении стебля и ветвей с поверхности видны клетки эпидермиса, на ребрах сильно удлинённые с утолщенными прямыми или слегка извилистыми пористыми стенками, без устьиц; в бороздках и не редуцированных листьях - слегка удлинённые с более извилистыми пористыми стенками, с устьицами. У обоих типов эпидермиса на стенках концов (стыков) некоторых клеток заметны характерные выросты, с поверхности имеющие вид спаренных кружочков, при рассмотрении в продольном положении - закругленные или зубчатые с ясно выраженной перегородкой; некоторые клетки имеют сосочковидные выросты. Устьица слегка погруженные, с характерной лучистой складчатостью кутикулы, расположены обычно в три ряда, реже в четыре, два и один.

На поперечном разрезе стебля под эпидермисом видны участки колленхимы как в ребрах, так и в бороздках. В паренхиме коры против борозд расположены большие воздухоносные полости. За слабозаметной эндодермой против ребер расположены в один ряд проводящие пучки, также несущие по одной небольшой полости. Центр междоузлия полый. На срезе ветвей имеется четыре крупных ребра, центральной полости нет.

Качественные реакции

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. В колбу вместимостью 50 мл помещают 1 г измельченного сырья, заливают 10 мл 95% спирта и настаивают в закрытой колбе в течение 30 мин, затем колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Горячее извлечение отфильтровывают. На линию старта хроматографической пластинки "Силуфол" размером 15x6 см или 15x15 см микрокапилляром или микропипеткой наносят 0,002 мл исследуемого извлечения.

Пластинку помещают в камеру (предварительное насыщение камеры не менее 2 ч) со смесью растворителей хлороформ- метиловый спирт (3:1) и хроматографируют восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей около 14 см пластинку вынимают из камеры и просматривают в УФ-свете. На хроматограмме должны быть видны три основных пятна: с R_f около 0,57 и R_f около 0,5, имеющие ярко-голубую флюоресценцию в УФ-свете при 254 нм или голубую с фиолетовым оттенком флюоресценцию при 360 нм, а также с R_f около 0,4, имеющее голубую с бирюзовым оттенком флюоресценцию в УФ-свете при 254 нм или голубую - в УФ-свете при 360 нм (флавоно-5-гликозиды). Допускается наличие других нехарактерных пятен.

Хроматограмму опрыскивают 2% раствором алюминия хлорида в 95% спирте, помещают в сушильный шкаф на 1-2 мин при 100-105 °С. После проявления пятна R_f около 0,57 и 0,5 не изменяют своей окраски, пятно с R_f около 0,4 становится желтым в видимом и УФ-свете.

Примечание. Хроматографические пластинки "Силуфол" перед использованием активируют в сушильном шкафу в течение 1 ч при температуре 100-105°C.

Числовые показатели

Цельное сырье. Влажность не более 13%; золы общей не более 24%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 12%; других частей растения не более 1%; других видов хвощей не более 4%; органической примеси не более 1%; минеральной примеси не более 0,5%.

Измельченное сырье. Влажность не более 13%; золы общей не более 24%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 12%; других частей растения не более 1%; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм, не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, не более 15%; органической примеси не более 1%; минеральной примеси не более 0,5%.

Примечание. К другим видам хвощей, встречающимся в сырье как примесь, относят:

а) хвощ лесной (*Equisetum silvaticum* L.), отличающийся от заготавливаемого нежестким стеблем, вторично ветвящимися вниз отклоненными тонкими ветвями. В верхней части стебля на ребрах под лупой заметны два ряда роговидных шипиков. Зубцы влагалища на стебле срастаются; в сырье легко обламываются. На верхушках встречаются тупые колоски. Под микроскопом при рассмотрении эпидермиса стебля с поверхности в бороздках видны в один (два) ряда устьица. Ребра гладкие, но местами по краям заметны большие сосочковидные выступы: стенки клеток ребер ветвей слабоволнистые;

б) хвощ луговой (*Equisetum pratense* L.), отличающийся от заготавливаемого почти горизонтальным расположением ветвей, дуговидно книзу отогнутых, неспаянными зубчиками влагалища и наличием в верхней части стебля конусовидных острых сосочков, густо расположенных по ребрышкам, очень хорошо заметных под лупой. На верхушке стеблей могут быть тупые колоски. Под микроскопом видно, что сосочки на эпидермисе ребрышек расположены в не-

сколько рядов. В бороздках один, реже два ряда устьиц. Стенки клеток ребер ветвей слегка волнистые;

в) хвощ топяной (*Equisetum fluviatile* L.), отличающийся от заготавливаемого очень толстым стеблем, толщиной около 0,5 см и высотой от 20 до 150 см. Ветви короткие малочисленные или отсутствуют. Влагалища с многочисленными зубцами (от 18 до 20). На верхушках стеблей встречаются тупые колоски. Под микроскопом при рассмотрении эпидермиса стебля с поверхности видны гладкие ребрышки, чередующиеся с широкими бороздками, несущими по 10-12 рядов устьиц в ширину;

г) хвощ болотный (*Equisetum palustre* L.), отличающийся от заготавливаемого беспаянными, снабженными широкой белой каймой зубцами стеблевых влагалищ. Влагалища ветвей на стебле черного цвета, а у других видов они зеленого или темно-бурого цвета. При отрывании ветвей на стебле удерживаются не только влагалища, но и первые членики в отличие от других видов хвоща. Поверхность стеблей и ветвей поперечно-морщинистая. На верхушке стеблей могут быть тупые колоски. Под микроскопом при рассмотрении эпидермиса с поверхности видны устьица, расположенные в несколько рядов. Ребрышки стеблей и ветвей несут заостренные зубцы. На поперечном срезе отличительными признаками являются: у ветвей - наличие центральной полости, у стеблей - отсутствие колленхимы в бороздках.

Упаковка

Цельное сырье упаковывают в мешки тканевые или льно-джутокенафные не более 20 кг нетто или в тюки из ткани не более 35 кг нетто. Измельченное сырье фасуют по 100 г в пачки картонные 11-1-4. **Срок годности** 4 года. Мочегонное средство.

60. HERBA SERPYLLI (ТРАВА ЧАБРЕЦА, HERBA THYMI SERPYLLI)

Собранная в фазу цветения, высушенная и обмолоченная трава тимьяна ползучего (чабреца) - *Thymus serpyllum* L., сем. яснотковых - Lamiaceae.

Внешние признаки

Смесь цельных или частично измельченных тонких веточек, листьев, ку­сочков стеблей толщиной до 0,5 см и цветков. Листья короткочерешковые, лан­цетные, эллиптические или продолговато-эллиптические, цельнокрайние, дли­ной до 15 мм, голые или слабоопушенные с резко выступающими жилками на нижней стороне листа. Под лупой (10X) по всей поверхности листа видны многочисленные буроватые точки (железки), у основания листа - длинные ред­кие щетинистые волоски. Кусочки веточек тонкие, четырехгранные, опушен­ные, зеленовато-коричневого или желтовато-бурого цвета, часто с фиолетовым оттенком.

Цветки мелкие, одиночные или собранные по несколько штук в полуму­товки. Каждый цветок состоит из двугубой чашечки и двугубого венчика. Ча­шечка длиной около 4 мм, снаружи опушенная; зубцы чашечки по краю с рес­нитчатыми волосками. Венчик длиной 5-8 мм, тычинок 4, пестик с четырехраз­дельной верхней завязью.

Цвет листьев - зеленый или серовато-зеленый; чашечки - буровато­красный; венчика - синевато-фиолетовый. Запах ароматный. Вкус горьковато­пряный, слегка жгучий.

Микроскопия

При рассмотрении листа с поверхности видны клетки эпидермиса верх­ней и нижней сторон листа с извилистыми стенками; на верхнем эпидермисе иногда заметна складчатость кутикулы и четковидное утолщение стенок. Усть­ица имеются на обеих поверхностях листа и сопровождаются двумя околоусть­ичными клетками, расположенными перпендикулярно устьичной щели (диа­цитный тип). Эфиромасличные железки крупные, состоят из 8 выделительных клеток, расположенных радиально; клетки эпидермиса вокруг места прикреп­ления железки иногда образуют розетку. Волоски трех типов: очень крупные, многоклеточные, бородавчатые волоски, расположенные у основания листа (выше по краю листа встречаются более мелкие волоски); головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на короткой одноклеточной ножке; сосочко-

видные выросты эпидермиса, гладкие или слегка бородавчатые, чаще встречаются на верхней стороне листа и по краю.

Числовые показатели

Экстрактивных веществ, извлекаемых 30% спиртом, не менее 18%; влажность не более 13%; золы общей не более 12%; золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, не более 5%; кусочков стеблей толщиной более 0,5 мм не более 10%; органической примеси не более 1%; минеральной примеси не более 1%.

Упаковка

В тюки из ткани не более 50 кг нетто или в мешки тканевые или льноджуто-кенафные не более 20 кг нетто. **Срок годности** 2 года. Отхаркивающее средство.

ГОСТ 13382-67 Лист мать- и- мачехи. Технические условия

ГОСТ 23768-94 Листья мяты перечной обмолоченные. Технические условия

ГОСТ 2237-93 Цветки ромашки. Технические условия

ГОСТ 15056-89 Корневища и корни девясила. Технические условия

ГОСТ 14143-69 Трава хвоща

ГОСТ 21816-89 Трава чабреца обмолоченная. Технические условия

Список использованных источников

1. Васильева, Н.В. Практические работы по органической химии / Н.В. Васильева, Н.Б. Куплетская, Т.А. Смолина. – Москва, 1978. – 304 с.
2. Пищевая химия: лабораторный практикум. Пособие для вузов / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова и др.; Под ред. А.П. Нечаева. – Санкт-Петербург, 2006. – 304 с.
3. Щербаков, В.Т. Биохимия растительного сырья / В.Т. Щербаков, В.Г. Лобанов. – Москва: Колос, 1999. – 376 с.
4. Пономарев, В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья / В.Д. Пономарев. - Москва: Медицина, 1976. - 204 с.
5. NSP от А до Я. Справочник по биологически активным добавкам к пище компании "Nature's Sunshine Products, Inc.". - Москва: ИООО "Книжный дом", 2013. - 240 с.
6. Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3 тт. Том 1. А - К / Б.Н. Головкин и др. - Москва: Наука, 2016. - 368 с.
7. Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3 тт. Том 2. Л - Я / Б.Н. Головкин и др. - Москва: Наука, 2009. - 430 с.
8. Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3 томах. Том 3. Указатели / Б.Н. Головкин и др. - Москва: Наука, 2009. - 216 с.
9. Биологически активные добавки в питании человека (оценка качества и безопасности, эффективность, характеристика, применение в профилактической и клинической медицине) / В.А. Тутельян и др. - Москва: Издательство НТЛ, 2011. - 296 с.
10. Биологически активные добавки к пище в медицинской практике. Опыт использования БАД компании "Art of life" в детской неврологии: Сборник медицинских статей: моногр. - Москва: Издательство НТЛ, 2008. - 632 с.
11. Биологически активные добавки к пище. Полная энциклопедия. - Москва: ИГ "Весь", 2015. - 384 с.

12. Галактионов, С. Биологически активные добавки / С. Галактионов. - Москва: Молодая Гвардия, 2010. - 272 с.
13. Гришин, Ю.И. Биологическая регенерация веществ. Основные процессы, системы, оборудование / Ю.И. Гришин, Е.А. Мандрыка, Н.Е. Мельникова. - Москва: У Никитских ворот, 2014. - 496 с.
14. Киселева, А.В. Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири / А.В. Киселева, Т.А. Волхонская, В.Е. Киселев. - Москва: Наука, 2013. - 133 с.
15. Клопов, М. И. Биологически активные вещества в физиологических и биохимических процессах в организме животного / М.И. Клопов, В.И. Максимов. - Москва: Лань, 2012. - 448 с.
16. Лавров, И. Е. Биологически активные добавки / И.Е. Лавров. - Москва: АСТ, Сова, 2009. - 711 с.
17. Рассел, Д. Биологически активные добавки / Джесси Рассел. - Москва: VSD, 2012. - 215 с.
18. Садоян, В. А. Биологически активные добавки на фармацевтическом рынке / В.А. Садоян. - Москва: Литература, 2012. - 200 с.
19. Сушкова, В.И. Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества / В.И. Сушкова. - Москва: ДеЛи принт, 2008. - 156 с.
20. ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов»
21. Гичев, Ю.Ю. Руководство по микронутриентологии. Роль и значение биологически активных добавок к пище / Ю.Ю. Гичев, Ю.П. Гичев. - Москва: «Триада-Х», 2006. - 264 с.
22. Нечаев, А.П. Пищевые и биологически активные добавки, ароматизаторы и технологические вспомогательные средства: учеб. пособие / А.П. Нечаев, А.А. Кочеткова. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2007. - 248 с.
23. Спиричев, В.Б. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами / В. Б. Спиричев, Л. Н. Шатнюк, В. М. Позня-

ковский; под ред. В.Б. Спиричева. - Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2005. - 548 с.

24. Иванова, Л.А. Пищевая биотехнология. В 2 кн. / Л.А. Иванова, Л.И. Войно, И.С. Иванова; под ред. И.М. Грачевой - Москва: КолосС, 2008. – Кн. 2. Переработка растительного сырья. - 472 с.

25. Моделирование рецептур пищевых продуктов и технологий их производства: теория и практика : учеб. пособие / О.Н. Красуля, С.В. Николаева, А.В. Токарев, А.Е. Краснов, И.Г. Панин. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2015. – 318 с.

26. Пищевая биотехнология, в 4 кн.: Основы пищевой биотехнологии. Кн.1: учебник / И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Г. П. Шуваева. – Москва: КолосС, 2004. - 440 с.

Сайты электронных библиотек

1. <http://e.lanbook.com/> -Издательство «Лань» электронно-библиотечная система (последнее посещение 1.06.2014)

2. <http://cyberleninka.ru/article/c/biotehnologiya> - научная электронная библиотека «КИБЕРЛЕНИНКА» (последнее посещение 1.06.2014)

3. <http://www.book.ru> -электронная библиотека Book.ru (последнее посещение 1.06.2014)

4. <http://agris.fao.org/agris-search/index.do>- база данных AGRIS (последнее посещение 1.06.2014)

5. <http://www.tehlit.ru> - крупнейшая библиотека нормативной и технической литературы.

Учебное пособие

Евгения Сергеевна Землякова

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ И КОМПОЗИЦИИ
ИЗ СЫРЬЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Часть 1

Редактор И. В. Голубева

Подписано в печать 19.01.2021 г. Формат 60 × 90 1/16.
Уч.-изд. л. 8,6. Печ. л. 8,6. Тираж 10 экз. Заказ № 2

Издательство федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Калининградский государственный технический университет»
236022, Калининград, Советский проспект, 1