

У.С. Ооржак, Е.С. Кашкак, А.Б. Лопсан-Ендан

# ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Часть 1



Кызыл  
2023

ФГБОУ ВО ТУВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

У.С. Ооржак, Е.С. Кашкак, А.Б. Лопсан-Ендан

**ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ  
ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.  
Часть 1**

Учебно-методическое пособие

КЫЗЫЛ 2023

УДК: 504.75(075)  
ББК: 20.1  
Х-46

Печатается по решению Учебно-методического совета  
Тувинского государственного университета.

Рецензенты:

Кендиван Ольга Даваа-Сереновна, к.х.н., доцент кафедры химии  
Куликова Марина Петровна, к.х.н., с.н.с. ТувИКОПР СО РАН

**Химический анализ объектов окружающей среды : учебно-методическое пособие.**  
**Часть 1** / составители : У. С. Ооржак, Е. С. Кашкак, А.-К., Б. Лопсан-Ендан. – Кызыл :  
Издательство ТувГУ, 2023. – 75 с. – Текст : непосредственный.

В учебно-методическом пособии рассмотрены основные группы природных соединений растительного сырья, качественное и количественное их определение. Приведены способы и методы химического анализа биологически активных соединений. Учебно-методическое пособие предназначено для выполнения лабораторного практикума, научно-исследовательских работ студентами, обучающихся по направлениям подготовки 04.03.01, 04.04.01 «Химия» и 44.03.05 «Биология и Химия». Пособие также может быть рекомендовано при проведении научно-исследовательских работ школьниками, студентами и аспирантами, занимающихся химическим анализом природных объектов окружающей среды.

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Введение .....                                                                      | 4  |
| Глава 1. Общие методы анализа .....                                                 | 5  |
| 1.1. Отбор проб растительного сырья .....                                           | 5  |
| 1.2. Степень измельчения сырья и содержание примесей .....                          | 9  |
| 1.3. Лабораторная работа 1. Определение степени измельчения и примесей .....        | 10 |
| 1.4. Влажность сырья.....                                                           | 11 |
| 1.5. Лабораторная работа 2. Определение содержания влажности .....                  | 11 |
| 1.6. Лабораторная работа 3. Определение влажности методом титрования.....           | 11 |
| 1.7. Зольность сырья.....                                                           | 12 |
| 1.8. Лабораторная работа 4. Определение содержания золы .....                       | 13 |
| 1.9. Экстрактивные вещества.....                                                    | 14 |
| 1.10. Лабораторная работа 5. Определение экстрактивных веществ .....                | 15 |
| <br>Глава 2. Биологически активные вещества растительного сырья.....                | 23 |
| 2.1. Органические кислоты .....                                                     | 25 |
| 2.2. Лабораторная работа 6. Определение органических кислот .....                   | 26 |
| 2.3. Фенольные соединения .....                                                     | 26 |
| 2.4. Лабораторная работа 7. Качественные реакции на фенольные соединения.....       | 27 |
| 2.5. Лабораторная работ 8. Определение полифенольных соединений .....               | 30 |
| 2.6. Гликозиды.....                                                                 | 31 |
| 2.7. Лабораторная работа 9. Качественные реакции на гликозиды .....                 | 32 |
| 2.8. Лабораторная работа 10. Определение гликозидов.....                            | 34 |
| 2.9. Дубильные вещества .....                                                       | 35 |
| 2.10. Лабораторная работа 11. Качественные реакции на дубильные вещества.....       | 36 |
| 2.11. Лабораторная работа 12. Определение дубильных веществ .....                   | 37 |
| 2.12. Алкалоиды.....                                                                | 38 |
| 2.13. Лабораторная работ 13. Качественные реакции на алкалоиды .....                | 41 |
| 2.14. Лабораторная работ 14. Определение алкалоидов .....                           | 42 |
| 2.15. Пигменты.....                                                                 | 42 |
| 2.16. Лабораторная работа 15. Качественные реакции на пигменты .....                | 44 |
| 2.17. Лабораторная работа 16. Определение пигментов.....                            | 45 |
| 2.18. Лабораторная работа 17. Определение каротина .....                            | 46 |
| <br>Глава 3. Витамины .....                                                         | 52 |
| 3.1. Лабораторная работа 18. Качественные реакции на водорастворимые витамины ..... | 60 |
| 3.2. Лабораторная работа 19. Определение аскорбиновой кислоты.....                  | 60 |
| 3.3. Лабораторная работа 20. Определение тиамина.....                               | 61 |
| 3.4. Лабораторная работа 21. Определение пиридоксина.....                           | 61 |
| 3.5. Лабораторная работа 22. Определение никотиновой кислоты .....                  | 62 |
| 3.6. Лабораторная работа 23. Качественные реакции на жирорастворимые витамины ..... | 63 |
| 3.7. Лабораторная работа 24. Спектрофотометрическое определение ретинола .....      | 65 |
| 3.8. Лабораторная работа 25. Колориметрическое определение ретинола .....           | 65 |
| 3.9. Лабораторная работа 26. Определение эргокальциферола.....                      | 66 |
| 3.10. Лабораторная работа 27. Определение токоферолов.....                          | 67 |
| 3.11. Лабораторная работа 28. Определение суммы токоферолов .....                   | 69 |
| <br>Список литературы .....                                                         | 74 |

## Введение

Система мониторинга – это система наблюдений получения информации за состоянием природной среды. В сферу аналитического контроля входят практически все природные объекты: вода, воздух, почва, растения, пища, корма животных и прочее. В связи с этим, выбираемые для мониторинга показатели должны быть, по возможности простыми, а методы доступными. В учебно-методическом пособии «Химический анализ природных объектов окружающей среды» приведены основные химические и физико-химические методы анализа объектов окружающей среды. Он состоит из двух частей. Первая часть пособия посвящена химическому анализу растений, вторая часть – анализу воды и почвы. Пособие содержит краткие сведения о химическом составе, основных свойствах биологически активных веществ растительного сырья, а также наиболее приемлемые методики анализа в области растительного сырья.

Учебно-методическое пособие предназначено для использования при выполнении лабораторного практикума по дисциплине «Химический анализ объектов окружающей среды», а также для проведения научно-исследовательского эксперимента курсовых и выпускных квалификационных работ студентами направлений подготовки 04.03.01, 04.04.01, 44.05.03, может быть рекомендовано школьникам, аспирантам и научным сотрудникам.

Целью дисциплины «Химический анализ объектов окружающей среды» является освоение студентами основных приемов химического анализа природных объектов: растений, воды, почвы, воздуха, как на основные компоненты, так и на элементы токсиканты. Полученные знания при освоении дисциплины будут полезны при изучении дисциплин «Химия окружающей среды и экологическая безопасность», «Химия природных соединений», «Химическая экология», «Аналитический контроль и мониторинг окружающей среды», направленных на формирование у студентов экологического мышления, развитие и закрепление у студентов умения грамотно планировать химический эксперимент по анализу объектов окружающей среды.

По завершению курса студенты должны освоить общепрофессиональные и профессиональные компетенции: анализировать и интерпретировать результаты химических экспериментов, наблюдений и измерений; осуществлять проведение работ по обработке и анализу научно-технической информации и результатов исследований. Студент должен знать химические и физико-химические методы анализа, принципы работы научного оборудования; уметь выбирать оптимальные схемы анализа объектов окружающей среды с учетом возможностей и оснащения химической лаборатории, грамотно комментировать получаемые в лаборатории результаты с учетом метрологических характеристик используемых методик выполнения измерений, значений предельно-допустимых концентраций соединений в конкретном объекте; владеть навыками проведения химического эксперимента.

В пособии приведены общие методы анализа растительного сырья, которые включают правила отбора проб растительного сырья, определение степени измельчения, влажности, зольности и экстрактивных веществ. Также содержит краткий теоретический обзор по основным группам биологически активных веществ растительного сырья: фенольные соединения, дубильные вещества, гликозиды, алкалоиды, витамины и др. После каждой темы приводятся методические рекомендации для выполнения лабораторных работ, задания для самостоятельной работы студентов, а также вопросы для самоконтроля.

## **Глава 1. Общие методы анализа растительного сырья**

Общие методы анализа растительного сырья основаны на определении таких числовых показателей, как влажность, зола, степень измельчения, чистота растительного сырья (РС) и лекарственного растительного сырья (ЛРС). Также указывается нормируемое содержание биологически активных (БАВ) или действующих веществ – индивидуальных веществ, суммы веществ (флавоноидов, алкалоидов) в пересчете на индивидуальное вещество (рутин, дигидрокверцетин, аллапенин и т.п.), эфирных масел, дубильных веществ или экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым различной концентрации или водой в редакции «не менее...%».

Перечень показателей качества, включенных в нормативный технический документ (НТД) зависит от путей использования сырья. В случае если оно предназначено для приготовления водных, спиртовых и водно-спиртовых извлечений, экстрактов, в НТД включено определение содержания экстрактивных веществ.

Для показателей «Влажность», «Зола общая», «Зола нерастворимая в 10 % растворе кислоты хлористоводородной», указывается норма в редакции «не более...%».

Для цельного, измельченного сырья и порошка приводится норма, характеризующая измельченность (содержание частиц сырья более мелкой фракции) в редакции – «частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером... мм, не более...%».

Для измельченного сырья (резаного, дробленого, шинкованного) и порошка регламентируется также содержание более крупных частиц сырья в редакции – «частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером ... мм, не более...%».

Для цельного и измельченного сырья регламентируется содержание частиц сырья, изменивших окраску (потемневших, почерневших, выцветших), в редакции – «не более...%», содержание также других (не сырьевых) частей данного растения, не соответствующих установленному описанию, в редакции – «не более...%», содержание органической примеси (частиц других не ядовитых растений), в редакции – «не более...%», содержание минеральной примеси (земли, песка, камешков и др.), в редакции – «не более...%».

### **1.1. Отбор проб растительного сырья**

Отбор проб растительного сырья проводят согласно общей фармакопейной статье (ОФС), устанавливающей единые требования к отбору проб лекарственного растительного сырья и растительных препаратов с целью определения соответствия их качества требованиям нормативной документации [1]. Отбор проб дикорастущих растений, относящиеся к пищевым лесным ресурсам и лекарственным растениям (дикоросы) проводят согласно государственному стандарту (ГОСТ) [2-4].

Процедура отбора проб должна соответствовать цели отбора проб, виду анализа, специфике отбираемых образцов и проводиться установленным методом отбора проб с соблюдением действующих санитарно-гигиенических правил и условий, исключающих загрязнение лекарственного растительного сырья.

При проведении процедуры отбора проб должны быть предусмотрены и учтены: план или схема, объём и тип, место и время отбора проб, выборка и подготовка проб для испытаний; специальные меры предосторожности, особенно в отношении ядовитых и сильнодействующих лекарственных растений; перечень используемого оборудования для отбора проб; требования по очистке и хранению оборудования для отбора проб и др.; типу, характеристике и маркировке тары для хранения проб; параметрам окружающей среды при отборе и подготовке проб для испытаний.

Пробы, отобранные в соответствии с ОФС, предназначены для проведения испытаний лекарственного растительного сырья на соответствие требованиям нормативной документации. Пробы могут быть отобраны методом случайного отбора.

Отбор проб от партии растительного сырья должен быть проведен в соответствии с порядком, представленным на рисунке 1.

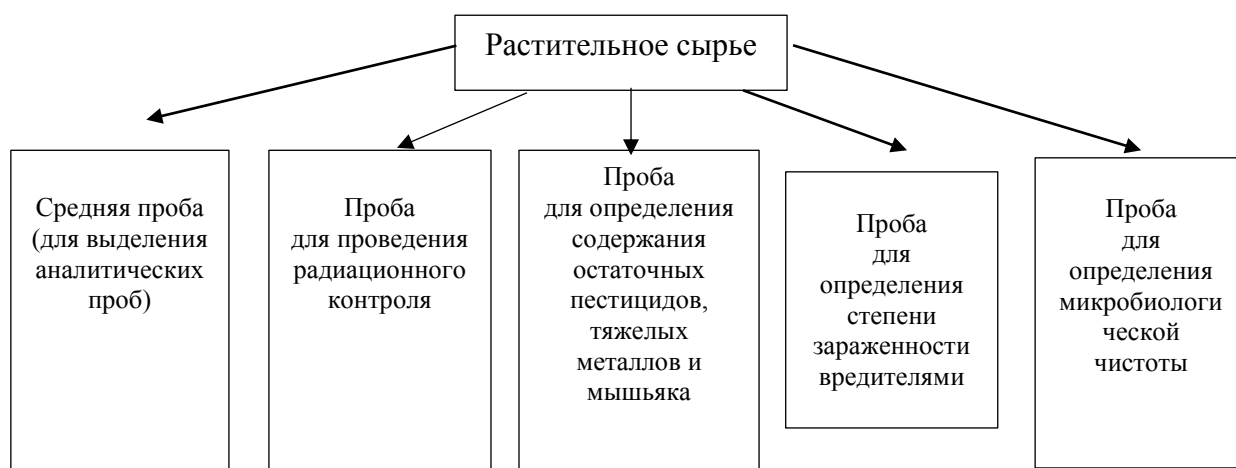


Рис. 1. Порядок отбора проб сырья

Формирование проб для проведения испытаний. Из объединенной пробы методом квартования выделяют следующие пробы в приведенной ниже последовательности:

- пробу для определения микробиологической чистоты массой 50 г, исключение составляют целые корни и корневища – 100 г, чага – 200 г;
- пробу для определения степени зараженности вредителями массой 500 г, для мелких видов сырья и массой 1000 г для крупных видов сырья;
- среднюю пробу (для выделения аналитических проб) в соответствии с указаниями табл. 1;
- пробу для проведения радиационного контроля в соответствии с указаниями табл. 3;
- пробу для определения содержания остаточных пестицидов, тяжелых металлов и мышьяка массой 50 г.

Для этого растительное сырье разравнивают на гладкой, чистой, ровной, сухой поверхности, в виде квадрата по возможности тонким равномерным слоем и по диагонали делят на четыре треугольника. Два противоположных треугольника удаляют, а два оставшихся соединяют вместе и перемешивают. Эту операцию повторяют до тех пор, пока не останется количество сырья в двух противоположных треугольниках, соответствующее массе одной из заданных проб. Допустимые отклонения в массе каждой из проб не должны превышать  $\pm 10\%$ . Перед квартованием каждой последующей объединенной пробы тщательно дезинфицируют руки, поверхности и инструмент для квартования.

Таблица 1

| Наименование растительного сырья                              | Масса средней пробы растительного сырья |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Березы почки                                                  | 200                                     |
| Сосны почки                                                   | 350                                     |
| Листья целые, кроме нижеперечисленных:                        | 400                                     |
| - сены листья                                                 | 200                                     |
| - толокнянки листья, брусники листья                          | 150                                     |
| Листья резаные, обмолоченные, измельченные, порошок           | 200                                     |
| Цветки целые, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных: | 300                                     |
| - полыни цитварной цветки                                     | 150                                     |
| - ноготков цветки, кукурузы столбики с рыльцами               | 200                                     |
| - бузины черной цветки                                        | 75                                      |
| - ромашки аптечной цветки                                     | 200                                     |
| Трава цельная, побеги, кроме нижеперечисленных:               | 600                                     |

|                                                                                        |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Трава, побеги резанные, обмолоченные, измельченные, порошок                            | 200  |
| Сочные плоды цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:                  | 200  |
| - шиповника плоды, боярышника плоды                                                    | 300  |
| Сухие плоды и семена цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:          | 300  |
| - термопсиса, семена льна, хмеля соплодия                                              | 200  |
| Клубни, корни и корневища цельные, кроме нижеперечисленных:                            | 600  |
| - марены корневища и корни, лапчатки корневища                                         | 400  |
| - девясила корневища и корни                                                           | 1000 |
| - папоротника мужского корневища, ревеня корни                                         | 1500 |
| - солодки корни очищенные                                                              | 2500 |
| - солодки корни неочищенные, барбариса корни, элеутерококка колючего корневища и корни | 6000 |
| Корни и корневища резанные, дробленные, измельченные                                   | 250  |
| Корни и корневища порошок                                                              | 150  |
| Кора цельная                                                                           | 600  |
| Кора резаная, измельченная, порошок                                                    | 200  |
| Прочее растительное сырье:                                                             |      |
| - чага цельная                                                                         | 3000 |
| - чага измельченная                                                                    | 450  |
| Сборы измельченные, порошок                                                            | 250  |

Пробу для определения степени зараженности вредителями герметично упаковывают. Среднюю пробу и пробы для радиационного контроля, микробиологической чистоты, остаточных пестицидов, тяжелых металлов и мышьяка упаковывают каждую в полиэтиленовый или многослойный бумажный пакет. К пакету прикрепляют этикетку.

Для формирования аналитических проб из средней пробы методом квартования выделяют пробы для определения:

- внешних признаков, микроскопии, качественных реакций, измельченности и содержания примесей;
- влажности (аналитическую пробу для определения влажности отделяют сразу же после отбора средней пробы и упаковывают герметически);
- содержания золы и действующих веществ.

Если при выделении аналитических проб в двух противоположных треугольниках масса сырья окажется меньше указанной в таблице 2, то следует из оставшихся при квартовании двух треугольников отделить сырье по всей толщине слоя и присоединить к аналитической пробе. Если масса окажется больше указанной в табл. 2, то следует удалить из отобранных треугольников сырье по всей толщине слоя, предварительно распределив его по поверхности стола.

Масса аналитических проб должна соответствовать массе, указанной в таблице 2.

Для таких видов сырья, как цельная трава, корни, корневища, клубни, после выделения аналитической пробы для определения внешних признаков, измельченности и содержания примесей часть средней пробы, предназначенную для определения влажности, содержания золы и действующих веществ, измельчают ножницами или секатором на крупные куски, тщательно перемешивают и затем выделяют соответствующие аналитические пробы.

При установлении в результате испытаний несоответствия качества сырья требованиям нормативной документации следует проводить его повторную проверку.

Таблица 2

| Масса аналитических проб растительного сырья                          |                                                                                |           |                                       |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------------------|
| Масса аналитической пробы, г, для определения                         |                                                                                |           |                                       |
| Наименование ЛРС/ЛРП                                                  | внешних признаков, микроскопии, качественных реакций, измельченности, примесей | влажности | содержания золы и действующих веществ |
| Березы почки                                                          | 50                                                                             | 25        | 100                                   |
| Сосны почки                                                           | 200                                                                            | 25        | 100                                   |
| Листья цельные, кроме нижеперечисленных:                              | 200                                                                            | 25        | 150                                   |
| сенны листья                                                          | 100                                                                            | 15        | 50                                    |
| толокнянки листья, брусники листья                                    | 50                                                                             | 25        | 50                                    |
| листья резаные, обмолоченные, измельченные, порошок                   | 50                                                                             | 25        | 100                                   |
| Цветки цельные, измельченные, порошок                                 | 200                                                                            | 25        | 50                                    |
| Трава цельная, побеги                                                 | 300                                                                            | 50        | 200                                   |
| Трава, побеги резаные, обмолоченные, измельченные, порошок            | 50                                                                             | 25        | 100                                   |
| Сочные плоды цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных: | 100                                                                            | 50        | 50                                    |
| шиповника плоды, боярышника плоды                                     | 200                                                                            | 25        | 50                                    |
| Сухие плоды и семена цельные, измельченные, порошок                   | 200                                                                            | 25        | 50                                    |
| Клубни, корни и корневища цельные                                     | 300                                                                            | 50        | 200                                   |
| Корни и корневища резаные, дробленные, измельченные                   | 100                                                                            | 25        | 100                                   |
| Корни и корневища порошок                                             | 50                                                                             | 15        | 50                                    |
| Кора цельная                                                          | 400                                                                            | 50        | 100                                   |
| Кора резаная, измельченная, порошок                                   | 100                                                                            | 25        | 50                                    |

Таблица 3

| Масса пробы растительного сырья для проведения радиационного контроля |                         |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Морфологическая группа ЛРС/ЛРП                                        | Масса пробы не менее, г |
| Листья                                                                | 600                     |
| Трава                                                                 | 600                     |
| Цветки                                                                | 600                     |
| Плоды                                                                 | 1000                    |
| Семена                                                                | 1000                    |
| Кора                                                                  | 1000                    |
| Корни и корневища                                                     | 1000                    |
| Почки                                                                 | 600                     |
| Прочее                                                                | 1000                    |

## 1.2. Степень измельчения сырья и содержание примесей

### ***Определение степени измельчения в цельном, резаном и дробленном сырье.***

***Степень измельчения сырья*** – характеризует размер частиц в растительном сырье.

От степени измельченности сырья зависит количество биологически активных веществ, перешедших в экстракционный препарат (например, водное извлечение, экстракт, настойку) [5]. Так, чем больше разрушена клеточная структура сырья, тем быстрее происходит процесс экстракции вследствие увеличения поверхности экстрагирования и скорости вымывания веществ из разрушенных клеток.

Большое содержание мелких частиц сопровождается увеличением числа клеток, имеющих разрушенную оболочку. Повышенная измельченность сырья, особенно содержащего крахмал, слизи, пектиновые вещества, способствует к слёживанию мелких частиц и образованию комков, что также затрудняет проникновение экстрагента в клетку, замедляя процесс извлечения БАВ и способствуя получению мутного и плохо фильтрующегося извлечения. При больших размерах частиц растворитель должен проникать через много слоев клеточных оболочек, поэтому экстракция БАВ из крупных частиц может проходить медленно и не полностью. Кроме того, при одновременном содержании как крупных, так и мелких частиц нарушается их распределение в слое препарата, приводящее к неоднородности его дозирования и, как следствие, неравномерному экстрагированию БАВ. В связи с этим для различных видов сырья должны быть установлены рациональные обоснованные нормы для степени измельчения. По НТД на каждое лекарственное сырье допускается незначительный процент измельченности.

***Определение содержания примесей. Примеси*** — посторонние части, попадающие в сырье в процессе заготовки.

При сборе в сырье могут попадать нестандартные части данного растения или другие растения, растущие рядом. При сушке и упаковке сырье измельчается, в него попадают земля, песок, солома. Стандарты допускают определенный процент примесей для каждого вида сырья [6].

Примеси в лекарственном сырье делятся на две группы — органические и минеральные. Органические примеси представляют собой следующее:

а) части того же растения, не соответствующие установленному в данном ГОСТе наименованию сырья; количество их варьирует и в зависимости от вида сырья приводится в стандартах отдельно (допускается обычно 2—5 %);

б) примеси других растений: прутья, сено, солома (допускается 5 %);

в) части, утратившие окраску: побуревшие, почерневшие (допускается 1—6 %);

г) измельченные части, образующиеся при сушке и упаковке (допускается 2—5 %, для ромашки около 20 %).

Минеральные примеси чаще попадают в результате сбора и обработки (песок, земля, пыль, камешки) и реже при упаковке (проволока). Для различного сырья допускается от 0,5 до 2 % минеральных примесей.

Примеси могут быть допустимые и недопустимые. *К недопустимым примесям относятся:* 1) ядовитые растения; 2) металлические предметы; 3) стекла; 4) помет птиц и грызунов; 5) другие похожие растения.

Некоторые растения, хотя они и неядовиты, могут быть недопустимы как примеси, так как обладают другим свойством. Например, к плодам жостера слабительного в качестве примеси не допускаются плоды черемухи, оказывающие вяжущее действие. В траве термопсиса недопустимой примесью являются плоды этого растения, так как их химический состав и применение различны.

Часто похожие растения трудно бывает различить. Например, при заготовке корневища с корнями валерианы попадают подземные органы таволги, при заготовке цветков бессмертника — цветки кошачьих лапок, вместо травы горькой полыни собирают траву чернобыльника, вместо травы череды трехраздельной — череду поникшую, вместо листьев крапивы двудомной листья крапивы глухой, вместо сушеницы топяной — сушеницу лесную.

Допустимыми являются органические и минеральные примеси, но их содержание не должно превышать норм, указанных в НТД.

Заготовители сырья должны хорошо знать внешние признаки, особенно ядовитых растений. Присутствие посторонних примесей снижает чистоту и качество лекарственного сырья, а также качество выпускаемых препаратов.

Принимая лекарственное сырье, прежде всего, обращают внимание на его подлинность. При сборе сырья с культивируемых растений (на плантациях) примеси почти не попадают, а при заготовке дикорастущего сырья — вероятность попадания их большая.

### 1.3. Лабораторная работа 1. Определение степени измельчения, примесей

**Цель работы:** определение степени измельчения и содержания примесей в растительном сырье.

**Методические материалы:** Государственная фармакопея Российской Федерации (ГФ РФ) XIV [7].

**Оборудование и реактивы:** набор сит, весы лабораторные.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Пробы растительного сырья осторожно перемешивают и просеивают через контрольное сито. Проволочные сита с квадратными отверстиями применяют для крупного сырья (травы, листья, корни), а металлические с пробивными округлыми отверстиями — для мелкого (семена, ягоды, цветки). Кору, корневища, корни, поступающие в кусках, отбирают вручную. Нестандартные, мелкие кусочки отделяют. Повторно просеивают сквозь сито с размером отверстий 0,25 мм, отделяя пыль, которую прибавляют к минеральной примеси.

Отсев измельченных частей производят плавными вращательными движениями. Прекращают отсев, как только из отверстий сита перестанут высыпаться измельченные части. Из остатка на сите выбирают вручную (лопаточками, иглами) органические и минеральные примеси, взвешивают с точностью до 0,1 г при массе аналитической пробы свыше 100 г на ручных или технических весах и вычисляют процентное содержание примесей. После определения измельченности навеску высыплют на стеклянную доску или клеенку и разбирают подряд вручную или при помощи деревянных лопаточек.

Для посева резаного, дробленого и другого измельченного сырья берут два сита, размер которых указан в НТД на конкретное сырье. Пробу сырья помещают на верхнее сито и просеивают, как указано для цельного сырья.

Затем взвешивают отдельно сырье, прошедшее через верхнее сито и сырье, прошедшее сквозь нижнее сито, а затем вычисляют процентное содержание частиц, не проходящих сквозь верхнее сито, и частиц, проходящих сквозь нижнее сито, от массы аналитической пробы.

Если в сырье обнаружены ягодная моль и ее личинки, точильщик хлебный и др., сырье не просеивают, а вредителей отбирают вручную. Пораженное вредителями растительное сырье подвергают дезинсекции.

Каждый вид примеси взвешивают отдельно с погрешностью не более 0,1 г при массе аналитической пробы более 100 г и с погрешностью не более 0,05 г при массе аналитической пробы 100 г и менее.

После взвешивания определяют процентное содержание примесей и сравнивают с НТД. Содержимое каждого вида примеси в процентах (х) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{m_1}{m_2} \cdot 100$$

где  $m_1$  — масса примеси, г;

$m_2$  — масса аналитической пробы сырья, г.

**Задание:** определите степень измельчения, фракционный состав и содержание примесей в предложенном образце растительного сырья. Рассчитайте процентное содержание степени измельчения и примесей. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

#### 1.4. Влажность сырья

Содержание влаги в растительном сырье служит одним из числовых показателей, характеризующих его доброкачественность. Сырье не должно содержать влаги выше допустимых норм, так как при повышенной влажности при хранении создаются условия, способствующие снижению его качества (изменяется окраска, появляется затхлый запах, плесень, разрушаются действующие вещества).

**Влага** — важный фактор, оказывающий существенное влияние на качество сырья. Для определения содержания влаги в растительном сырье аналитическая проба хранится в особых условиях, исключающих изменение этого показателя.

**Влагой** называется количество гигроскопической влаги (воды) в сырье, выраженное в процентах от общей массы.

Для большинства видов сырья допустимый предел влажности обычно 10-15 % (остаточная «товарная» влага). Нормативная документация (НД) для каждого вида сырья устанавливает норму содержания влаги (влажность) не выше определенного значения.

#### 1.5. Лабораторная работа 2. Определение содержания влажности

**Цель работы:** определение содержания влажности растительного сырья.

**Методические материалы:** ГФ РФ XIV, ГОСТ 24027.2-80 [7, 8].

**Оборудование и реактивы:** сушильный шкаф, весы аналитические, эксикатор, бюксы, тигельные щипцы, хлорид кальция плавленый, вазелин.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Для каждой партии сырья проводят два - три параллельных определения.

Влагу в растительном сырье определяют высушиванием навески в 3—5 г (с точностью до 0,01 г), взятой из герметически упакованной аналитической пробы сырья при температуре 100—105 °С до постоянной массы. Корни, семена, плоды, коры сушат в сушильном шкафу в течение 3 ч, травы и цветки — 2 ч. По истечении этого срока бюкс с порошком сырья охлаждают в эксикаторе и взвешивают. По разнице между взвешиваниями устанавливают потерю влаги при сушке, выражая оставшееся ее количество в процентах.

Расчет производится по формуле:

$$X = \frac{m - m_1}{m} \cdot 100$$

где X — содержание влаги, %;

m — масса навески до сушки, г;

m<sub>1</sub> — масса навески после сушки, г.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух – трех параллельных определений, вычисленных с точностью до десятых долей процента; допустимое расхождение между ними не должно превышать 0,5 %.

Иногда рассчитывают не влажность, а сухость образца. При выполнении анализов сырья для расчета содержания во взятой навеске абсолютно сухого материала удобнее пользоваться коэффициентом материала.

**Коэффициент сухости** K<sub>сух</sub> — это отношение массы сухого материала к массе материала до высушивания:

**Задание.** определите содержание влажности в предложенном образце растительного сырья. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

#### 1.6. Лабораторная работа 3. Определение влажности методом титрования

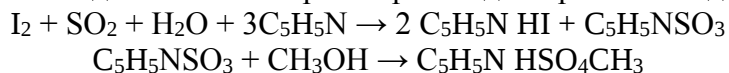
**Цель работы:** определение содержания влажности в растворах и экстрактах.

**Методические материалы:** ГФ РФ XIV, ГОСТ 24027.2-80 [7, 8].

**Оборудование и реактивы:** прибор Дина и Старка для определения влаги в сырье методом дистилляции, конические колбы для титрования, пипетки, бюретка, магнитная мешалка., реактив Фишера, метиловый спирт.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Реактив К. Фишера представляет собой раствор двуокиси серы, йода и пиридина в метиловом спирте. Взаимодействие этого раствора с водой протекает в две стадии:



С помощью реактива К. Фишера можно точно и быстро определять любые количества воды, как в органических растворителях, так и летучих веществах. Так может быть определена как гигроскопическая, так и кристаллизационная вода.

Реактивы и растворы, применяемые в данном методе, очень гигроскопичны, поэтому должны быть приняты меры предохранения их от атмосферной влаги.

Для титрования применяют прибор, который представляет собой закрытую систему, состоящую из бюретки, защищенной осушительной трубкой с хлоридом кальция, сосуда для подачи реактива и колбы для титрования, соединённых с бюреткой. Колба должна быть также снабжена осушительной трубкой. Титрование проводят при перемешивании, для чего удобно применять магнитную мешалку.

Точную навеску исследуемого вещества, содержащую приблизительно от 0,03 до 0,05 г воды, помещают в сухую колбу вместимостью 100 мл, в которую предварительно внесено 5 мл метилового спирта. Перемешивают 1 минуту и титруют реактивом К. Фишера, прибавляя его при приближении к конечной точке по 0,1-0,05 мл.

Конец титрования может быть определён как визуально по изменению окраски от жёлтой до красновато-коричневой, так и электрометрическим титрованием «до полного прекращения тока». Изменение тока в конечной точке титрования при этом выражено настолько чётко, что для её определения построение графиков не обязательно. При исполнении модифицированной схемы на электроды накладывается разность потенциалов от 0,03 до 0,05 В.

Параллельно титруют 5 мл метилового спирта (контрольный опыт).

Содержание воды в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(a - б) \cdot T}{в} \cdot 100$$

где, а – объём реактива К. Фишера, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

б – объём реактива К. Фишера, израсходованный на титрование в контрольном опыте, мл;

в – навеска препарата, г;

T – титр реактива К. Фишера.

**Задание:** определите содержание влажности в предложенном образце. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

### 1.7. Зольность сырья

Зола растений (общая зола) состоит из смеси различных неорганических веществ, находящихся в самом растении (свойственных растению), минеральных примесей (земля, песок, камешки, пыль), которые могут попасть в сырьё при сборке и сушке.

*Золой растительного сырья называют остаток неорганических веществ, получаемых после сжигания сырья и последующего прокаливания остатка до постоянной массы.*

Количество золы в растительном сырье колеблется в определённых пределах и зависит как от специфики самого сырья, так и способа его сбора и условий сушки. Значительные отклонения от указанных в нормативных документах (НД) норм обычно свидетельствуют о загрязнении сырья минеральной примесью или о несвоевременном сборе сырья и др.

В золе чаще всего содержатся следующие элементы: K, Na, Mg, Ca, Fe, C, Si, P, реже и в меньшем количестве Cu, Mn, Al и др. Эти элементы находятся в золе в виде оксидов или солей угольной, фосфорной, серной и других кислот.

Содержащиеся в растениях минеральные вещества подразделяют на *макроэлементы* и *микроэлементы*. Количество макроэлементов в золе – не менее сотых долей процента, количество микроэлементов – тысячные доли процента. Состав микроэлементов

исключительно своеобразен, причём обнаруживаемые в золе некоторые редкие элементы могут служить своеобразными индикаторами почвы, на которой произрастали собранные растения.

Об общем содержании минеральных веществ в лекарственных растениях судят по золе, количество которой варьирует в широких (от 3 до 25 %) пределах в зависимости от вида сырья [6].

#### **1.8. Лабораторная работа 4. Определение содержания золы**

**Цель работы:** определение содержания золы в растительном сырье.

**Методические материалы:** ГФ РФ XIV, ГОСТ 24027.2-80 [7, 8].

**Оборудование и реактивы:** муфельная печь, электроплитка, эксикатор, фарфоровые тигли, тигельные щипцы, эксикатор, баня водяная, фильтр беззольный, часовые стекла, 2 % раствор  $\text{AgNO}_3$ , 10 % раствор  $\text{HCl}$ , перекись водорода, концентрированная азотная кислота, 10 % раствор  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и дистиллированная вода.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Золой называют несгораемый остаток неорганических веществ, полученный после сжигания и прокаливания сырья. В состав золы входят все составные части растения и посторонние минеральные примеси (земля, песок, камешки), попавшие в сырье при сборе и сушке.

Различают:

1) общую, представляющую собой сумму минеральных веществ, свойственных растению и посторонних минеральных примесей;

2) нерастворимую в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, представляющую собой остаток после обработки общей золы  $\text{HCl}$  и состоящую из кремнезема. Повышенный процент золы указывает на минеральную примесь.

1-3 г (при определении только общей золы) и 5 г (при определении общей золы и золы нерастворимой в 10 %-ной кислоте хлористоводородной) измельченного сырья (точная навеска), проходящего сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещают в предварительно прокаленный до постоянной массы фарфоровый тигель и равномерно распределяют по дну тигля. Навеску сырья в тигле осторожно обугливают над слабым пламенем газовой горелки, стараясь, чтобы конец пламени не касался дна тигля, или на электроплитке. В этом случае на неё помещают асбестовую сетку, на которую устанавливают тигли с навесками.

После полного обугливания сырья тигли переносят в муфельную печь для сжигания угля и полного прокаливания остатка. Прокаливание ведут при красном калении ( $550-650^\circ\text{C}$ ) до постоянной массы, избегая сплавления золы и спекания её со стенками тигля. По окончании прокаливания несколько остывшие, но ещё горячие тигли ставят в эксикатор, охлаждают и взвешивают. Постоянная масса считается достигнутой, если разница между двумя последующими взвешиваниями не превышает 0,0005 г.

Если после охлаждения остаток ещё содержит частицы угля, то добавляют несколько капель пероксида водорода, концентрированной азотной кислоты или 10%-ного нитрата аммония, выпаривают под тягой на водяной бане и вновь прокаливают до тех пор, пока остаток не станет белым или примет равномерную окраску.

Для определения содержания золы, нерастворимой в 10 %-ной хлористоводородной кислоте, в тигель с общей золой приливают 10 мл 10 %-ной хлористоводородной кислоты, покрывают часовыми стёклами и надевают на кипящей водяной бане в течение 10 минут, затем снимают их и после остывания содержимое фильтруют через беззольный фильтр; тигель, часовое стекло, и фильтр промывают дистиллированной водой до прекращения появления мути в промывных водах от капли 2 %-ного серебра нитрата.

Тигли и фильтры высушивают, фильтры осторожно сжигают в тиглях, после чего прокаливают до постоянной массы.

Содержание общей золы ( $X_1$ ) в процентах в абсолютно сухом сырье вычисляют по

формуле:

$$X_1 = \frac{m_1 \cdot 100}{m_2 \cdot (100 - W)} \cdot 100$$

где  $m_1$  — масса золы, г;

$m_2$  — масса сырья, г;

$W$  — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Содержание золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты ( $X_2$ ), в процентах в абсолютно сухом сырье вычисляют по формуле:

$$X_2 = \frac{(m_1 - m) \cdot 100}{m_2 \cdot (100 - W)} \cdot 100$$

где  $m_1$  — масса золы, г;

$m$  — масса золы фильтра (если золы его более 0,002 г);

$m_2$  — масса сырья, г;

$W$  — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Следует помнить, что повышенное содержание нерастворимой в хлористоводородной кислоте части золы указывает на значительное содержание в растительном сырье минеральной примеси.

**Задание.** Определите содержание золы в предложенном образце растительного сырья. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

### 1.9. Экстрактивные вещества

Содержание экстрактивных веществ в растительном сырье является важным числовым показателем, определяющим его доброкачественность, особенно для тех видов сырья, у которых количественное определение действующих веществ не проводится.

**Экстракция** — это метод извлечения биологически активных веществ из растительного сырья с помощью подходящего растворителя (экстрагента).

**Экстрактивными веществами** условно называют комплекс органических и неорганических веществ, извлекаемых из растительного сырья соответствующим растворителем и определяемых количественно в виде сухого остатка.

Экстрагирование основано на различной растворимости химических соединений в различных растворителях. В качестве растворителей применяют различные вещества. Так, вода может служить для извлечений из смеси твердых веществ тех из них, которые растворимы в ней. Различные органические жидкости, такие как диэтиловый эфир, спирт, бензол, хлорированные углеводороды, бензин и другие погонны нефти, часто используются в лабораториях как растворители преимущественно органических, но и часто неорганических веществ.

Растворитель, который следует брать при определении экстрактивных веществ, указан в соответствующей нормативной документации на данный вид сырья. Обычно этот же растворитель применяют при приготовлении настойки или экстракта из этого сырья. Чаще всего это спирт этиловый (40 или 70 %-ный) или вода.

Для извлечения экстрактивных веществ из раствора применяются растворители, не смешивающиеся с этим раствором, но в которых вещество растворяется лучше, чем в первом растворителе. В зависимости от применяемых растворителей и условий экстракции состав извлекаемых веществ будет различным. Поэтому экстрактивные вещества принято классифицировать по группам на основании последовательности их удаления.

Очень часто при анализе используют следующую классификацию экстрактивных веществ: летучие с паром; растворимые в воде; растворимые в органических растворителях; нерастворимые в воде и органических растворителях.

### 1.10. Лабораторная работа 5. Определение экстрактивных веществ

**Цель работы:** определение содержания экстрактивных веществ в растительном сырье.

**Методические материалы:** ГФ РФ XIV, ГОСТ 24027.2-80 [7, 8].

**Оборудование и реактивы:** аппарат Сокслета, эксикатор, сухие конические колбы объемом 150-200 мл, конические колбы со шлифом объемом 250 мл для экстракции, лабораторная установка с шариковым холодильником для экстракции (по числу рабочих мест), воронки стеклянные для фильтрования диаметром 5 см, бумажные фильтры, чашки фарфоровые выпарительные диаметром 9 см, весы лабораторные аналитические, весы ручные; весы технические (Мора), лабораторный сушильный шкаф, пипетки измерительные объемом 25 мл, бюксы с крышками, водяные бани, электрические плитки, вытяжной шкаф, щипцы тигельные, асбестовые сетки на электроплитки.

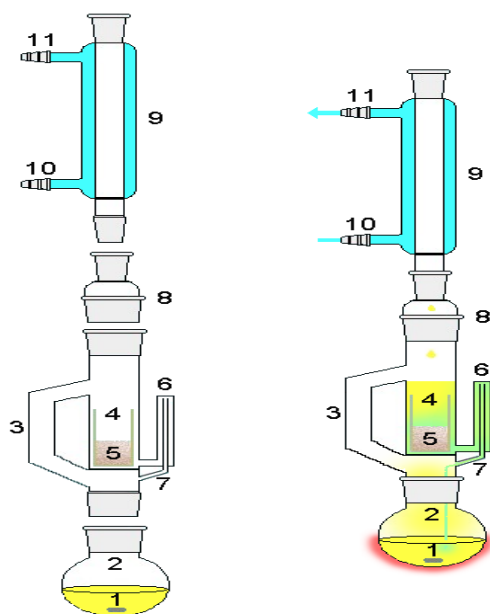
Растворители: вода дистиллированная, этиловый спирт концентрации 20 %, 30 %, 70 %.  
Дезинфицирующие средства для хранения пипеток.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Определение содержания экстрактивных веществ различных химических групп в сырье, производят по ГФ XIV и ГОСТу 24027.2—80. «Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла» [7, 8].

Экстракция может быть разовой (однократной или многократной) или непрерывной (перколяция). Простейший способ экстракции из раствора — однократная или многократная промывка экстрагентом в делительной воронке. Делительная воронка представляет собой сосуд с пробкой и краном для слива нижнего слоя жидкости. Для непрерывной экстракции используются специальные аппараты — экстракторы, или перколяторы.

Для извлечения индивидуального вещества или определённой смеси (экстракта) из сухих продуктов в лабораториях широко применяется непрерывная экстракция по Сокслету (рис. 2).



- 1 – якорь магнитной мешалки;
- 2 – колба для кипячения экстрагента;
- 3 – трубка для паров растворителя;
- 4 – патрон из пористого материала;
- 5 – сухая смесь;
- 6 – сифон;
- 7 – слив сифона;
- 8 – шлифовой переходник;
- 9 – обратный холодильник;
- 10, 11 – патрубки для холодной воды

Рис. 2. Аппарат Сокслета

Для определения экстрактивных веществ аналитическую пробу растительного сырья измельчаем и просеиваем, используя сито с отверстиями не меньше 1 мм, и отбираем навеску 1 г.

Навеску растительного сырья помещаем в коническую колбу и приливаем 50 мл растворителя, указанного в соответствующей фармакопейной статье или нормативной документации на лекарственное растительное сырье, колбу закрывают пробкой, взвешивают (с погрешностью  $\pm 0,01$  г) и оставляют на 1 ч.

Затем колбу соединяем с обратным холодильником, нагреваем до кипения и кипятим 2 часа, не допуская сильного кипения. Охлаждаем колбу с содержимым и снова закрываем той же пробкой, взвешиваем и потерю в массе дополняем 70 %-ым спиртом.

Содержимое тщательно взбалтываем и фильтруем, используя сухой бумажный фильтр, в колбу объемом 150-200 мл.

Фарфоровую чашку предварительно высушиваем при  $105^{\circ}\text{C}$  до постоянной массы и взвешиваем на аналитических весах. В подготовленную чашку переносим фильтрат в количестве 25 мл, выпариваем на водяной бане досуха и сушим при  $105^{\circ}\text{C}$  не менее 3 часов в лабораторном сушильном шкафу. Затем охлаждаем в эксикаторе и быстро взвешиваем.

Вычисляем количество (%), содержащихся в сырье экстрактивных веществ на абсолютно сухую массу (а.с.м.), используя формулу:

$$X = \frac{m \cdot V \cdot 100}{m_1 \cdot 25 \cdot (100 - W)} \cdot 100$$

где  $m$  — масса сухого остатка, г;

$m_1$  — навеска лекарственного растительного сырья, г;

$V$  — объем экстрагента, используемый при однократной обработке растительного сырья, мл,

$W$  — влажность лекарственного растительного сырья, %.

Проводим два-три параллельных определения. Вычисляем среднее арифметическое значение результатов определений. Полученное значение принимаем как окончательный результат проведенного испытания.

Количество экстрактивных веществ в сырье зависит от района выращивания или сбора растительного сырья и соблюдения сроков его заготовки и должно быть не менее той нормы, что указана в нормативном документе на исследуемый вид. Соответствие требованиям нормативного документа по содержанию экстрактивных веществ в конкретном растительном сырье является показателем его качества, а результаты испытаний обязательно учитываются в системе контроля качества растительного сырья, применяемого при изготовлении препаратов на его основе.

**Задание:** определите содержание экстрактивных веществ в предложенном образце ЛРС, сделайте заключение о соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

#### **Контрольные вопросы:**

1. Для чего предназначены аналитические пробы? Какова масса аналитических проб?
2. Чем обусловлена чистота и доброкачественность сырья? Факторы, влияющие на доброкачественность ЛРС.
3. Метод отбора аналитической пробы для определения подлинности и измельченности ЛРС.
4. Как выделяется проба из партии ЛРС для определения радионуклидов?
5. Как проводится определение однородности сырья?
6. Как проводится анализ зараженности сырья амбарными вредителями?
7. Расскажите о трех степенях зараженности сырья клещами.
8. Как выделяется проба из партии ЛРС для определения микробиологической чистоты?
9. Почему исследование сырья начинают с определения измельченности?
10. Сущность методики определения измельченности ЛРС. Особенности проведения просеивания. Когда просеивание измельченных частиц считается законченным?
11. Как влияют примеси на качество сырья? Какие бывают примеси?
12. Перечислите допустимые примеси к ЛРС.

13. Перечислите показатели качества ЛРС. В каком случае партия ЛРС не подлежит приемке?
14. Методы отбора аналитической пробы для определения влажности ЛРС в соответствии с требованиями НД.
15. Как определяется влажность сырья?
16. Укажите температурный режим сушки ЛРС при определении влажности.
17. Что показывает содержание золы? Напишите формулу определения общей золы.
18. Укажите аналитическое значение числового показателя «Зола нерастворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной».
19. Укажите температурный режим сушки экстрактивных веществ ЛРС.
20. Укажите растворители, которые используют при определении экстрактивных веществ в ЛРС. Приведите примеры.

### **Задачи для самостоятельной работы:**

#### **Задача 1**

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «корневища змеевика» массой 200 г. Определите доброкачественность сырья по данным:

1. Результаты химического эксперимента:

- а) вес пустого тигля – 21,1020  
вес тигля с навеской ЛРС – 24,3200  
вес тигля с золой – 21,3573
- б) влажность – 12 %
- в) зола, нерастворимая в 10% HCl – 1 %
- г) корневищ, черных на изломе – 16 г  
остатков листьев и стеблей – 1,5 г  
корневищ пырея – 0,5 г  
земли – 1,4 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Корневища змеевика» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 13 %; золы общей не более 10 %; корневищ, почерневших на изломе, не более 10 %; корней, остатков листьев и стеблей, в том числе отделенных при анализе не более 1 %; органической примеси не более 0,5 %; минеральной примеси не более 1 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

#### **Задача 2**

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «трава зверобоя» массой 200 г. Определите доброкачественность по данным:

1. Результаты, полученные при анализе:

- а) вес пустого тигля – 16,4860  
вес тигля с навеской ЛРС – 18,4024  
вес тигля с золой – 16,6080
- б) влажность—12 %
- в) зола, нерастворимая в 10% HCl – 1 %
- г) стеблей –110 г  
травы мятлика – 1,5 г  
земли – 1 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Трава зверобоя» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 13 %; золы общей не более 8 %; золы, нерастворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, не более 1 %; стеблей, в том числе отделенных при анализе, не более 50 %; органической примеси не более 1 %; минеральной примеси не более 1 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

**Задача 3**

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «листья сенны» массой 200 г. Определите доброкачественность сырья по данным:

1. Результаты, полученные при анализе:

а) вес пустого бюкса – 15,84

вес бюкса с навеской ЛРС – 19,12

вес бюкса с навеской ЛРС после высушивания – 18,77

б) зола общая – 10,5 %

в) бурых листочков – 20 г

плодов – 35 г

листочков – 125 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Листья сенны» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 12 %; золы общей не более 12 %; кусочков стеблей толще 2 мм не более 3 %; листочков и плодов не менее 60 %; в том числе побуревших, почерневших листочков не более 3 %; органической примеси не более 3 %; минеральной примеси не более 1 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

**Задача 4**

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «листья белены» массой 200 г. Определите доброкачественность сырья по данным:

1. Результаты, полученные при анализе:

а) вес пустого бюкса – 16,35

вес бюкса с навеской ЛРС – 19,88

вес бюкса с навеской ЛРС после высушивания – 19,48

б) зола общая – 17,5 %

в) зола, нерастворимая в 10 % HCl – 9 %

г) бурых листьев – 5 г

стеблей – 5 г

цветков – 3 г

измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм – 15 г

травы пастушьей сумки – 1 г

песка – 1,6 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Листья белены» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 14 %; золы общей не более 20 %; золы, нерастворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, не более 10 %; пожелтевших, побуревших, почерневших листьев не более 3 %; других частей растения (стеблей, цветков, плодов) не более 5 %; измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, не более 8 %; органической примеси не более 1 %; минеральной примеси не более 1 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

### Задача 5

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «трава пустырника» массой 200 г. Определите доброкачественность сырья по данным:

1. Результаты, полученные при анализе:

а) вес пустого тигля – 15,8792

вес тигля с навеской ЛРС – 18,0877

вес тигля с золой – 16,0891

б) влажность – 9,5 %

в) зола, нерастворимая в 10% HCl – 4,5 %

г) стеблей – 80 г

бурых соцветий – 8 г

желтых листьев – 12 г

травы горца шероховатого – 8 г

земли – 1 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Трава пустырника» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 13 %; золы общей не более 12 %; золы, нерастворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, не более 6 %; почерневших, побуревших и пожелтевших частей растения не более 7 %; стеблей, в том числе отделенных при анализе, не более 46 %; органической примеси не более 3 %; минеральной примеси не более 1 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

### Задача 6

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «кора крушины» массой 200 г. Определите доброкачественность сырья по данным:

1. Результаты, полученные при анализе:

а) вес пустого тигля – 16,0085

вес тигля с навеской ЛРС – 18,1125

вес тигля с золой – 16,0909

б) влажность – 13 %

в) зола, нерастворимая в 10 % HCl – 0,5 %

г) кусков коры толщиной 4 мм – 6 г

кусков коры толщиной 3 мм – 4 г

кусков коры с лишайником – 1 г

кусков коры с остатками древесины – 4 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Кора крушины» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 15 %; золы общей не более 5 %; золы, нерастворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, не более 0,6 %; кусков коры, покрытых кустистыми лишайниками, не более 1 %; кусков коры с остатками древесины не более 1 %; кусков коры толще 2 мм не более 3 %; органической примеси не более 0,5 %; минеральной примеси не более 0,5 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

### Задача 7

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «листья дурмана обыкновенного» массой 200 г. Определите доброкачественность сырья по данным:

1. Результаты, полученные при анализе:

а) вес пустого тигля – 15,8792

вес тигля с навеской ЛРС – 18,1352

вес тигля с золой – 16,3665

б) влажность – 10 %

в) желтых листьев – 6 г

стеблей – 0,8 г

цветков – 2 г

измельченных листьев, проходящих сквозь сито 3 мм, – 6 г

листьев пижмы – 0,5 г

песка – 1,8 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Листья дурмана обыкновенного» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 14 %; золы общей не более 20 %; листьев почерневших и пожелтевших не более 5 %; других частей растения (стеблей, отдельных плодов, цветков) не более 2 %; измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, не более 4 %; органической примеси не более 0,5 %; минеральной примеси не более 0,5 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

### Задача 8

В контрольно-аналитическую лабораторию поступил образец цельного лекарственного растительного сырья «трава горца птичьего» массой 200 г. Определите доброкачественность сырья по данным:

1. Результаты, полученные при анализе:

а) вес пустого бюкса – 15,30

вес бюкса с навеской ЛРС – 18,93

вес бюкса с навеской ЛРС после высушивания – 18,57

б) зола общая – 10,5 %

в) бурых листьев и стеблей – 5 г

корней – 3 г  
 травы горца малого – 2 г  
 земли – 2,6 г

2. Выписка из статьи ГФ РФ «Трава горца птичьего» [7]:

Числовые показатели: влажность не более 13 %; золы общей не более 13 %; побуревших и почерневших частей травы не более 3 %; корней не более 2 %; органической примеси не более 2 %; минеральной примеси не более 2 %.

**Задание:** определите доброкачественность сырья по выше представленным данным и оформите протокол в виде таблицы:

| Показатель | Допускается по НД | Определено при анализе | Методика определения |
|------------|-------------------|------------------------|----------------------|
|            |                   |                        |                      |

**Задача 9.** Ознакомьтесь с фармакопейными статьями «Листья мяты перечной», «Корень солодки», «Трава пустырника», «Корни и корневища девясила», «Трава пастушьей сумки» [7].

Перепишите в тетрадь раздел «Числовые показатели» для цельного сырья по каждой ФС, особо выделив общие числовые показатели и растворители для определения экстрактивных веществ, если такой показатель имеется среди числовых показателей.

**Задание:** заполните таблицу:

Описание: заполнить таблицу.

| Наименование сырья            | Общие числовые показатели |       |                               |                                            |                                    |
|-------------------------------|---------------------------|-------|-------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------|
|                               | Влажность                 | Зола  |                               | Количественное определение (указать метод) | Экстрактивные вещества, экстрагент |
|                               |                           | Общая | Нерастворимая в 10 % р-ре HCl |                                            |                                    |
| 1. Листья мяты перечной       |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 2. Трава пустырника           |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 3. Корни солодки              |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 4. Корни и корневища девясила |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 5. Трава пастушьей сумки      |                           |       |                               |                                            |                                    |

**Задача 10.** Ознакомьтесь с фармакопейными статьями «Плоды шиповника», «Плоды боярышника», «Плоды смородины», «Плоды рябины», «Плоды облепихи» [7].

Перепишите в тетрадь раздел «Числовые показатели» для цельного сырья по каждой ФС, особо выделив общие числовые показатели и растворители для определения экстрактивных веществ, если такой показатель имеется среди числовых показателей.

**Задание:** заполните таблицу:

| Наименование сырья  | Общие числовые показатели |       |                               |                                            |                                    |
|---------------------|---------------------------|-------|-------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------|
|                     | Влажность                 | Зола  |                               | Количественное определение (указать метод) | Экстрактивные вещества, экстрагент |
|                     |                           | Общая | Нерастворимая в 10 % р-ре HCl |                                            |                                    |
| 1. Плоды шиповника  |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 2. Плоды боярышника |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 3. Плоды смородины  |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 4. Плоды рябины     |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 5. Плоды облепихи   |                           |       |                               |                                            |                                    |

**Задача 11.** Ознакомьтесь с фармакопейными статьями «Брусники обыкновенной листья», «Багульника болотного побеги», «Чабреца трава» [7].

Перепишите в тетрадь раздел «Числовые показатели» для цельного сырья по каждой ФС, особо выделив общие числовые показатели и растворители для определения экстрактивных веществ, если такой показатель имеется среди числовых показателей.

**Задание:** заполните таблицу:

| Наименование сырья              | Общие числовые показатели |       |                               |                                            |                                    |
|---------------------------------|---------------------------|-------|-------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------|
|                                 | Влажность                 | Зола  |                               | Количественное определение (указать метод) | Экстрактивные вещества, экстрагент |
|                                 |                           | Общая | Нерастворимая в 10 % р-ре HCl |                                            |                                    |
| 1. Брусники обыкновенной листья |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 2. Багульника болотного побеги  |                           |       |                               |                                            |                                    |
| 3. Чабреца трава                |                           |       |                               |                                            |                                    |

## Глава 2. Биологически активные вещества растительного сырья

Растительное сырье является источником получения биологически активных веществ (БАВ), используемых для производства лекарственных средств растительного происхождения, фармацевтических субстанций растительного происхождения, лекарственных растительных препаратов, биологически активных добавок к пище (БАД), функциональных обогащенных продуктов питания, диетического и диабетического питания, парфюмерно-косметической продукции. Таким образом, ценность лекарственных растений определяется содержанием в них биологически активных веществ [9].

Лекарственные растения содержат сложный набор первичных и вторичных метаболитов, которые определяют разносторонние действия лекарственных растений. Продукты вторичного метаболизма применяются в современной медицине значительно чаще и шире (рис. 3).

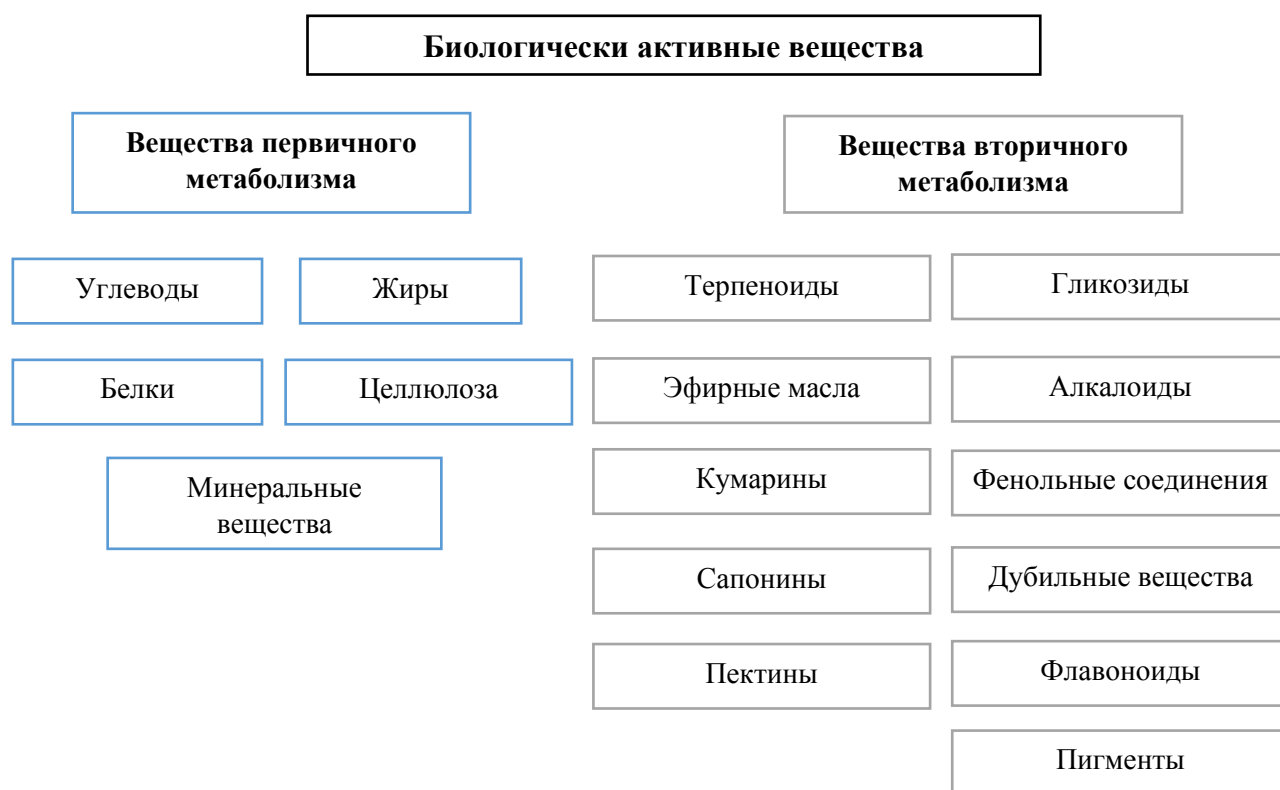


Рис. 3. Классификация биологически активных веществ растений

При выделении и разделении смеси БАВ, полученных из растительного сырья, с целью их идентификации и количественного определения используют методы физического, химического и физико-химического анализа, чаще всего – тонкослойную, бумажную и колоночную хроматографии. Для исследования БАВ в сырье применяют методы газожидкостной (ГЖХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), ультрафиолетовой (УФ-), инфракрасной (ИК-), ядерного магнитного резонанса (ЯМР-) и хромато-масс-спектро스코пии, спектрометрии, титриметрии, гравиметрии. В отдельных случаях могут быть использованы методы морфолого-анатомических исследований.

Для разработки и совершенствования технологий переработки растительного сырья необходимо не только знать химический состав и содержание биологически активных соединений в нем, но и основные методы анализа растительного сырья.

Методы анализа биологически активных веществ растительного сырья делятся на химические, физико-химические и биохимические методы анализа.

**Химические методы** анализа связаны с превращением исследуемого вещества в другое соединение, обладающее такими свойствами, с помощью которых можно установить

образование этого соединения или измерить его количество. Химический процесс, проводимый с целью получения нового соединения, называется аналитической реакцией, а вещество, вызывающее аналитическую реакцию – реагентом. Очевидно, что способ измерения количества образующегося соединения всегда является физическим. Например, в основе гравиметрического метода анализа, лежит определение массы веществ взвешиванием. В титриметрических методах измеряют объемы растворов.

Химические методы можно разделить на качественное и количественное определение (гравиметрия, титриметрия).

**Физико-химические методы** анализа занимают промежуточное положение между химическими и физическими методами. Они основаны на физико-химических изменениях, происходящих в результате контролируемой аналитической реакции. Такими изменениями могут, например, быть: появление окраски, помутнение растворов, резкое возрастание его электрической проводимости. Точные измерения проводят только в том случае, если между количеством вещества и измеряемым физико-химическим свойством существует определенная функциональная зависимость, выражаемая математической формулой или графически.

Физико-химические методы можно разделить на:

- хроматографические методы (широко используются для очистки и разделения смесей): колоночная (жидкостная); бумажная; газовая.
- фотометрические методы: спектрофотометрический; фотоколориметрический.
- биологические методы – количественное определение сердечных гликозидов.

Наиболее точны и высокочувствительны фотометрические методы (фотоколориметрия и спектрофотометрия), основанные на измерении количества света, поглощенного веществом, суммой веществ или комплексом вещества в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной области спектра. Используют фотометрические методы для определения почти всех групп биологически активных веществ (сердечные гликозиды, экдистероны, сапонины, кумарины, хромоны, лигнаны, флавоноиды, антраценпроизводные, дубильные вещества, алкалоиды, каротиноиды).

Фотоэлектроколориметрические методы основаны на измерении степени поглощения немонахроматического (полихроматического) света на довольно широком участке спектра окрашенных растворов с помощью фотоэлектроколориметра. Для получения окрашенных соединений используют реактивы, дающие яркие, устойчивые окраски: на флавоноиды, кумарины, фенологликозиды проводят реакцию образования азокрасителя с диазотированными сульфаниламидами (листья вахты, корневища и корни родиолы розовой).

Для анализа алкалоидов используют частные цветные реакции, основанные на окислении, конденсации и дегидратации алкалоидов концентрированными кислотами (коробочки и трава мака). Антраценпроизводные дают вишнево-красное окрашивание со щелочами (кора крушины, корни ревеня, корневища и корни марены красильной).

Спектрофотометрические методы основаны на способности веществ или их окрашенных продуктов реакции избирательно поглощать монахроматический свет в определенной области спектра. Такими свойствами обладают флавоноиды, кумарины, антраценпроизводные, сапонины, индивидуальные алкалоиды, экдистероны. Измерение проводят с помощью спектрофотометра.

Наиболее точными являются хроматоспектрофотометрические методы, основанные на разделении веществ с помощью хроматографии с последующим их определением спектрофотометрически. Можно определять количественное содержание, как суммы веществ, так и индивидуальные вещества.

Реже для анализа лекарственного растительного сырья применяется флюорометрия, полярография, денситометрия, амперометрия, кондуктометрия.

**Биологические методы** используют для количественного определения сердечных гликозидов.

**Биохимическими методами** анализа определяют группы соединений растительной

ткани (липидов, белков, углеводов), при этом используют методики определения индивидуальных компонентов вышеназванных групп соединений, а также целого ряда других биологически активных веществ, позволяющих судить о данном виде растительного сырья как об источнике определенных жизненно важных для живого организма составляющих (витаминов, органических кислот и др.).

Биохимический анализ лекарственного растительного сырья предусматривает общую характеристику группы, их физико-химические свойства, выделение комплекса БАВ, проведение качественных реакций, хроматографические исследования и количественное определение.

Выбор метода анализа зависит от физических и химических свойств БАВ. Используют гравиметрические (весовые), титриметрические (объему) и физико-химические (инструментальные) методы анализа.

## 2.1. Органические кислоты

Органические кислоты содержатся в растениях, как в свободном состоянии, так и в виде солей или эфиров. Они накапливаются во всех частях растений, но в плодах чаще всего преобладают свободные органические кислоты, в листьях и других органах – связанные.

Карбоновые кислоты представляют собой кристаллические вещества (табл. 4).

Таблица 4

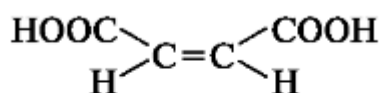
| Названия некоторых дикарбоновых кислот и их производных |                                          |                 |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------|
| Название                                                | Формула                                  | Название аниона |
| Щавелевая (этандиовая)                                  | HOOC-COOH                                | Оксалат         |
| Малоновая (пропандиовая)                                | HOOCCH <sub>2</sub> COOH                 | Малонат         |
| Янтарная (бутандиовая)                                  | HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH | Сукцинат        |
| Глутаровая (пентандиовая)                               | HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH | Глутарат        |

Систематические названия дикарбоновых кислот строятся по общим правилам заместительной номенклатуры. Однако для большинства из них предпочтительны тривиальные названия. Их латинские названия служат основой названия анионов и производных кислот, которые часто не совпадают с русскими тривиальными названиями (см. табл. 4).

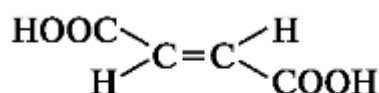
*Щавелевая кислота* – простейшая двухосновная кислота. Некоторые ее соли, например, оксалат кальция, трудно растворимы и часто образуют камни в почках и мочевом пузыре (оксалатные камни).

*Янтарная кислота* в заметном количестве была обнаружена в янтаре, откуда получила название сама кислота и ее производные *сукцинаты* (от лат. *succinūm* - янтарь).

*Малеиновая и фумаровая кислоты* – представители ненасыщенных дикарбоновых кислот с одной двойной связью. Фумаровая кислота участвует в обменных процессах, протекающих в организме.



малеиновая кислота  
(*цис*-изомер)



фумаровая кислота  
(*транс*-изомер)

В большинстве случаев в растениях встречаются лимонная, яблочная, уксусная, щавелевая, винная и другие кислоты. Наиболее богаты ими плоды шиповника, малины, смородины.

*Яблочная кислота* присутствует в растениях, особенно много в плодах. Не содержат ее только цитрусовые плоды и клюква. Эту кислоту используют при производстве безалкогольных напитков и кондитерских изделий.

*Винная кислота* обладает незначительным раздражающим действием, поэтому как ее, так и кислые соли используют в кондитерской и безалкогольной промышленности. В основном винная кислота и ее соли содержатся в винограде в количестве от 0,3 до 1,7 %.

*Лимонная кислота* содержится во многих растениях, особенно много в плодах. В цитрусовых имеется только лимонная кислота, например, в лимонах ее до 8 %. Ее широко применяют в кондитерской, ликероводочной промышленности, производстве безалкогольных напитков, а также используют в медицинской практике.

*Щавелевая кислота* встречается в щавеле, ревене и шпинате. В растительных продуктах щавелевая кислота находится обычно в виде средних и кислых солей кальция и калия.

Органические кислоты имеют очень широкий диапазон фармакологического действия. Они поддерживают нормальное кислотно-щелочное равновесие в организме, участвуют в обмене веществ, улучшают пищеварение, повышают выделение желчи и панкреатического сока, оказывают потогонное, антисептическое, успокаивающее действие [9, 10].

## 2.2. Лабораторная работа 6. Определение органических кислот

**Цель работы:** определение содержания органических кислот в растительном сырье.

**Методические материалы:** ГФ РФ XIV [7].

**Оборудование и реактивы:** круглодонная колба объемом 250 мл, колба объемом 500 мл, водяная баня, шариковый холодильник, электрическая плитка, 1 % спиртовой раствор фенолфталеина, 0,1 % раствор метиленового синего, 0,1 н раствор гидроксида натрия.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

25 г измельченного сырья помещают в колбу объемом 250 мл, заливают 200 мл воды и выдерживают в течение 2 часов на кипящей водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу объемом 250 мл, доводят объем водой до метки.

Затем отбирают 10 мл извлечения, помещают в колбу объемом 500 мл, добавляют 200-300 мл свежeproкипяченной воды, 1 мл 1 % спиртового раствора фенолфталеина, 2 мл 0,1 % раствора метиленового синего и титруют раствором гидроксида натрия (0,1 н) до получения лилово-красной окраски [10-12].

Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту:

$$X = \frac{\Delta V \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100}{g \cdot K_{\text{сyx}} \cdot 10}$$

где, 0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора NaOH, г;

$\Delta V$  – средний объем раствора NaOH, пошедший на титрование, мл;

$g$  – масса сырья, г;

$K_{\text{сyx}}$  – потеря в массе при высушивании.

**Задание:** определите содержание органических кислот в предложенном образце растительного сырья. Рассчитайте процентное содержание степени измельчения и примесей. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

## 2.3. Фенольные соединения

Особенностью представителей растительного мира является их способность к синтезу и накоплению фенольных соединений. Природные фенолы часто проявляют высокую биологическую активность. Почти все фенольные соединения являются активными метаболитами клеточного обмена и играют существенную роль в различных физиологических процессах – дыхании, фотосинтезе, росте, развитии и репродукции. Некоторым полифенолам приписывается роль в защите растений от патогенных микроорганизмов и грибковых заболеваний.

В растениях фенольные соединения, а именно флаваноиды, кроме катехинов и лейкоантоцианов, сравнительно редко встречаются в свободном состоянии. Подавляющее

большинство их представлено в виде разнообразных гликозидов. Многообразие флавоноидных гликозидов обусловлено значительным набором сахаров и возможностями присоединения их в ряде положений, а также тем, что сахара могут иметь различную величину окисных циклов, конфигурацию гликозидных связей порядок сочетаний между ними.

К флавоноидам относятся также производные халкона, катехины, антоцианидины, ауруны.

Катехины относят к полифенолам, они входят в состав конденсированных дубильных веществ. Катехины представляют собой наиболее восстановленные флавоноидные соединения. Многие красные и синие окраски цветков с различными оттенками обусловлены присутствием антоцианидинов. В зависимости от pH среды окраска цветков меняется. В кислотной среде они образуют розовую, красную окраску, в щелочной среде – от голубой до синей с разными оттенками. Ауруны имеют разнообразную структуру. Они встречаются в растениях семейства астровых. В растениях присутствуют в форме гликозидов.

Физико-химические свойства флавоноидов характеризуются тем, что они представляют собой кристаллические вещества с определенной температурой плавления, без запаха, имеющие жёлтый (флавоны, флавонолы, халконы и др.), бесцветный (изофлавоны, катехины, флаваноны и др.), а также окрашенные в красный или синий цвет в зависимости от pH среды (антоцианы). В кислой среде они имеют красный цвет (соли катионов), в щелочной – синий (соли анионов).

Биологическая роль флавоноидов в растениях заключается в их участии в окислительно-восстановительных процессах. Они выполняют защитные функции, предохраняя растения от различных неблагоприятных воздействий окружающей среды.

Многие флавоноиды представлены пигментами, придающими разнообразную окраску растительным тканям. Так, антоцианы определяют красную, синюю, фиолетовую окраску цветов, а флавоны, флавонолы, ауруны, халконы — жёлтую и оранжевую. Катехины и лейкоантоцианы бесцветны. Они являются родоначальниками конденсированных дубильных веществ.

Они принимают участие в фотосинтезе, образовании лигнина и суберина, в качестве защитных агентов для растений, вовлечены в регуляцию процессов прорастания семян, а также пролиферацию и отмирание клеток удлиняющихся растущих частей растений. Их многообразие объясняется тем, что в растениях большинство из них присутствует в виде гликозидов.

Сахарные и гликозидные остатки могут быть представлены моносахаридами – глюкозой, галактозой, ксилозой и др., а также различными ди-, три- и тетрасахаридами. К сахарным остаткам нередко присоединены молекулы оксикоричных и оксибензойных кислот.

Под влиянием ферментов флавоноиды расщепляются на сахара и агликоны. В качестве сахаров встречаются D-глюкоза, D-галактоза, D-ксилоза, L-рамноза и L-арабиноза, D-глюкуровая кислота [14].

Естественные функции флавоноидов в растениях мало изучены. Предполагалось, что благодаря способности поглощать ультрафиолетовое излучение (330–350 нм) и часть видимого света (520–560 нм) они защищают растительные ткани от избыточной радиации. Окраска цветочных лепестков помогает насекомым находить нужные растения и тем самым способствовать опылению. Флавоноиды являются фактором устойчивости растений к поражению некоторыми патогенными грибами.

Суммарное содержание флавоноидов изменяется в зависимости от местообитания; на накопление флавоноидных соединений влияют такие факторы, как степень освещённости и обеспеченности элементами минерального питания, а также фитоценоотическое окружение.

#### **2.4. Лабораторная работа 7. Качественные реакции на фенольные соединения**

**Цель работы:** проведение качественного анализа на наличие фенольных соединений в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

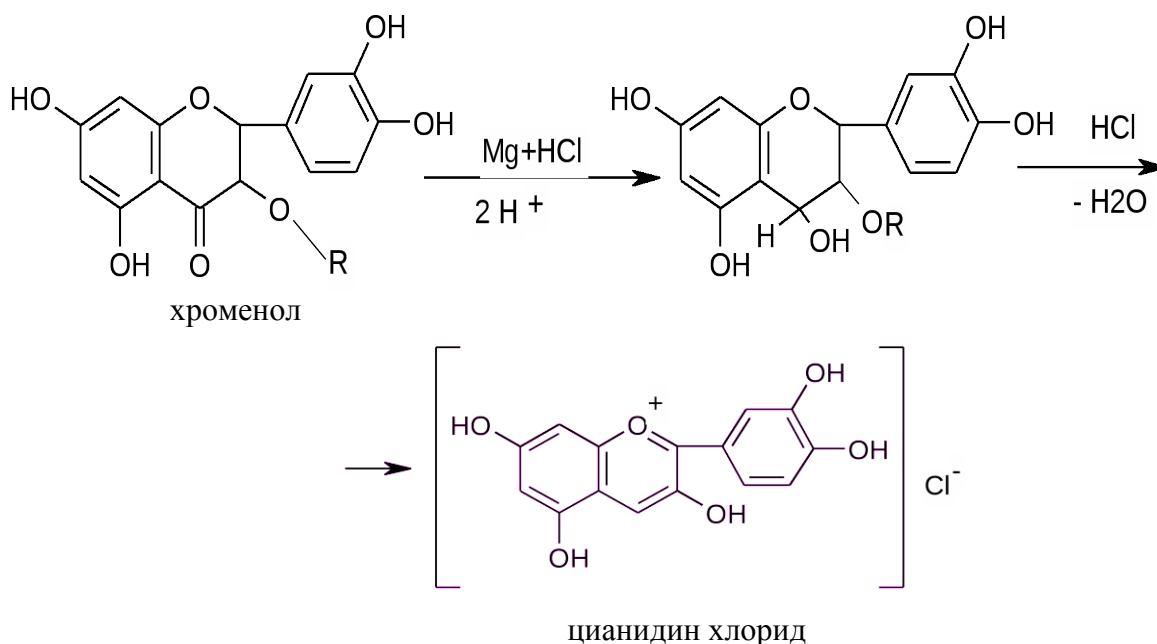
**Оборудование и реактивы:** пробирки, штатив для пробирок, магний (цинк), соляная кислота концентрированная, реактив Вильсона, треххлористая сурьма, 2-5 % раствор хлорида железа, 1 % раствор основного ацетата свинца, 2 % раствор щелочи, 10 % раствор щелочи, 1 % раствор ванилина в концентрированной соляной кислоте, раствор аммиака, 5 % спиртовый раствор хлорида алюминия, 5 % спиртовый раствор хлорида сурьмы в четыреххлористом углероде,

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Для обнаружения флавоноидов часто используют следующие качественные реакции:

1. Характерной реакцией на *флавоноиды* является цианидиновая проба или проба Синода (основана на восстановлении их атомарным водородом в кислой среде в присутствии магния или цинка).

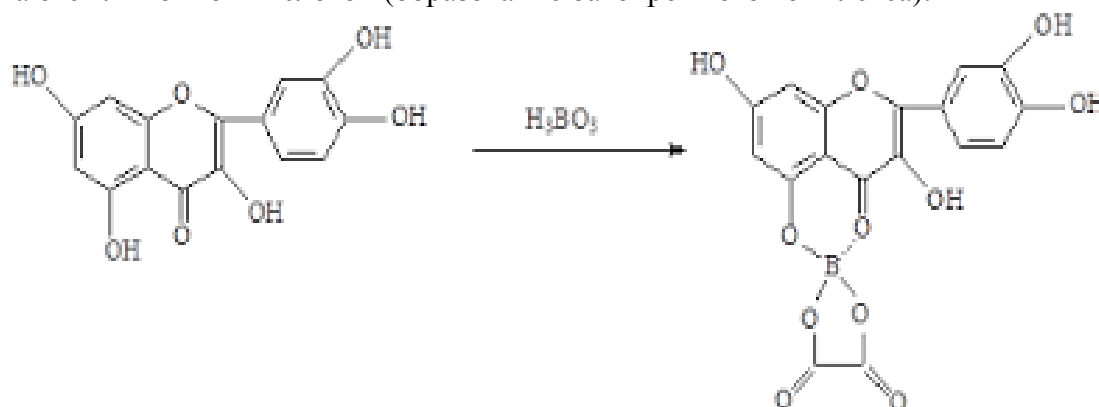
Флавоноиды при восстановлении магнием или цинком в присутствии концентрированной хлористоводородной кислоты образуют красное окрашивание, обусловливаемое образованием антоцианидинов:



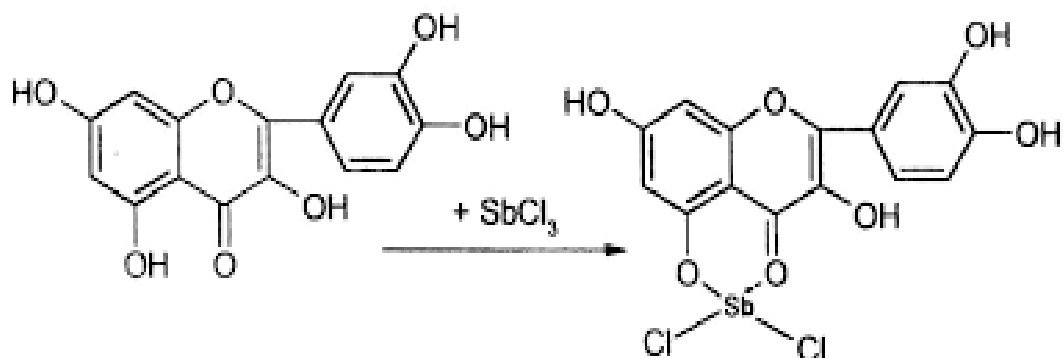
Реакция очень чувствительна, основана на восстановлении карбонильной группы и образовании антоцианида.

2. *Халконы и ауроны* при помощи цианидиновой реакции не обнаруживаются, но при добавлении концентрированной соляной кислоты (без магния) образуют красное окрашивание за счет образования оксониевых солей.

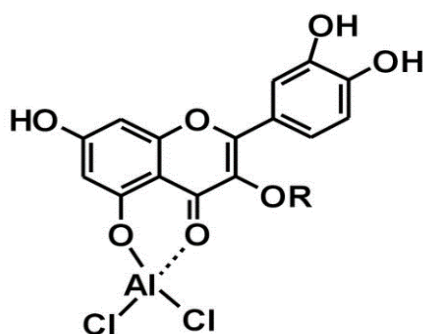
3. Борно-лимонная реакция с реактивом Вильсона (по 0,5 г борной и лимонной кислот в метаноле). Реакция позволяет отличить *флавоноиды от фуранохромонов*. Флавоноиды дают комплексы с борной кислотой желтой окраски с желто-зеленой флюоресценцией, которые не разрушаются лимонной кислотой (образование батохромного комплекса):



4. 5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы, взаимодействуя с треххлористой сурьмой, образуют комплексные соединения, окрашенные в желтый или красный цвет:

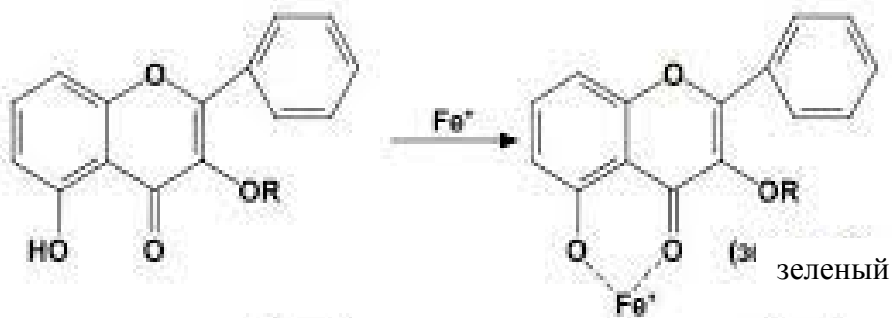


5. С 2-5 %-ным спиртовым раствором хлорида алюминия флавоноиды образуют желто-зеленое окрашивание, что говорит об их наличии. При этом образуются хелатные комплексы за счет водородных связей, возникающих между карбонильной и оксигруппой, желтого цвета с желто-зеленой флуоресценцией.



Аналогично образуются комплексы с солями циркония.

6. Реакция с солями железа (хлорид окисного железа). В присутствии флавоноидов образуются комплексные соединения, окрашенные в черно-синий цвет и диоксипроизводных – в зеленый цвет.



7. Реакция с 1 %-ным раствором основного ацетата свинца. Антоцианидины дают синий аморфный осадок. Флавоны, халконы и ауруны – осадки ярко-желтого цвета.

8. Реакция с 10 %-ным раствором щелочи с образованием фенолятов желтого цвета на флавоны и флавонолы. Антоцианидины образуют со щелочами соли от синего до оливково-зеленого цвета.

9. Реакция азосочетания с диазосоединениями в фенольных соединениях образуется азокраситель оранжевого, красного или вишнево-красного цвета.

10. С раствором аммиака, щелочи флавоны, флаваноны, флавонолы, флаванолы дают желтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое или красное; халконы и ауруны тотчас же дают красное или пурпурное окрашивание. Чистые катехины окрашивания не дают, однако присутствие даже в небольшом количестве примесей (продуктов окисления)

вызывает появление желтой окраски. *Антоцианы* в присутствии аммиака или карбоната натрия дают синее или фиолетовое окрашивание.

11. С 1 %-м раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте образуется красно-малиновое окрашивание в присутствии *катехинов* (производные флороглюцина и резорцина).

12. *Флавоны, халконы, ауроны*, содержащие свободные ортогидроксильные группировки в кольце В, при обработке спиртовых растворов средним уксуснокислым свинцом образуют осадки, окрашенные в ярко-желтый и красный цвета. *Антоцианы* образуют осадки, окрашенные как в красный, так и в синий цвета.

**Задание:** с помощью качественного анализа в предложенном образце растительного сырья установите наличие фенольных соединений. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

## 2.5. Лабораторная работа 8. Определение полифенольных соединений

**Цель работы:** определение содержания фенольных соединений в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** круглодонная колба объемом 250 мл, колба объемом 500 мл, водяная баня, шариковый холодильник, электрическая плитка, дистиллированная вода, 50 % раствор этилового спирта, раствор индигокармина, 0,1 н раствор перманганата калия.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

К 2 г воздушно-сухого сырья добавляют 50 мл 50-процентного этанола при нагревании на водяной бане в течение 30 минут, извлечение ведут до истощения сырья, контролируя полноту извлечения. В экстракте, разбавленном 50-процентным этанолом до 50 мл, определяют сумму фенольных соединений перманганатометрическим методом [12].

К 10 мл экстракту добавляют 25 мл индигокармина, 750 мл дистиллированной воды и титруют 0,1 н раствором перманганата калия до соломенно-желтого цвета. В контролируемую пробу вместо экстракта добавляют спирт (той концентрации, который в экстракте).

Рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 0,0058 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V_1}$$

где а – количество 0,1 н раствора  $\text{KMnO}_4$ , пошедшего на титрование, мл;

б – количество 0,1 н раствора  $\text{KMnO}_4$ , пошедшего на титрование контрольной пробы, мл;  
0,0058 – коэффициент пересчета на танин;

$V_2$  – общий объем экстракта, мл.

$V_1$  – объем экстракта, взятый на титрование, мл.

m – масса навески, г.

Дубильные вещества в экстракте осаждают добавлением 5 %-ного раствора желатина. Для этого берут 20 мл экстракта, осаждают 5-процентным раствором желатина. Полученную смесь отстаивают в течение 3 дней при температуре 3 – 4 °С. Дубильные вещества выпадают в осадок. Количество дубильных веществ рассчитывают по разности между суммой полифенолов и суммой флавоноидов и фенолкарбоновых кислот.

Содержание флавоноидов определяют фотоэлектроколориметрическим методом в экстракте, оставшемся после исследования суммы полифенолов, очищенном от дубильных веществ. Для этого берут 2 мл экстракта, прибавляют 2 мл 2 %-ного раствора хлористого аммония, приготовленном в 50 %-ном этаноле. Через 2 мин добавляют 2 мл 10 %-ного ацетата калия, также приготовленном в 50 %-ном этаноле. Через 1 мин определяют светопоглощение раствора на фотоэлектроколориметре при синем светофильтре (440-485 нм) в кюветах на 5 мм. В качестве контроля используют раствор, полученный смешиванием 2 мл раствора с 4 мл 50 %-ного этанола. Расчет проводят по калибровочным графикам, построенным для флавоноидных соединений.

Содержание фенолкарбоновых кислот определяют по разнице между суммой полифенолов, очищенных от дубильных веществ и суммой флавоноидов.

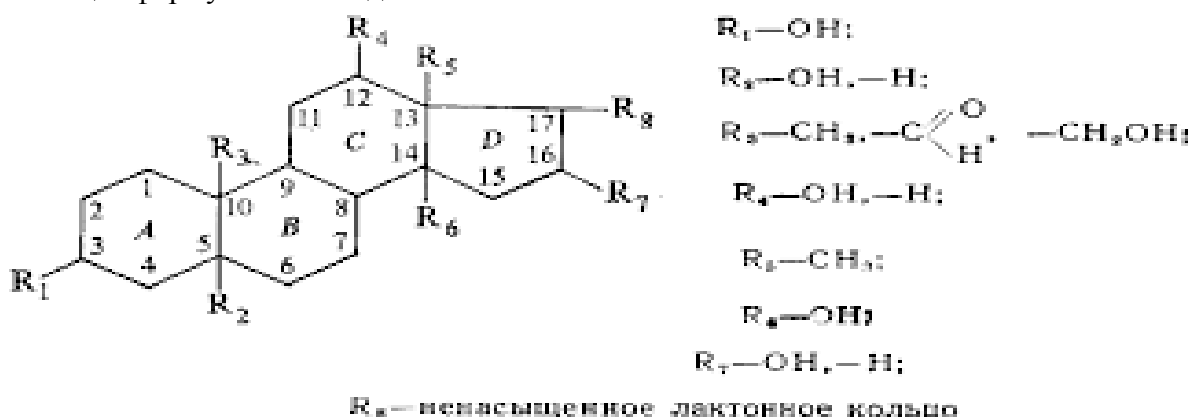
**Задание:** определите содержание полифенольных соединений в предложенном образце растительного сырья. Рассчитайте суммарное содержание полифенольных соединений, дубильных веществ, флавоноидов, фенолкарбоновых кислот в исследуемом образце. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

## 2.6. Гликозиды

В группу гликозидов простых фенолов относят такие гликозиды, которые при гидролизе расщепляются на агликоны, содержащие одну или несколько гидроксильных фенольных групп при одном бензольном кольце. Кроме фенольных гидроксильных групп в качестве заместителей в агликонах могут быть оксиметильная, гидроэтильная или карбоксильная группы.

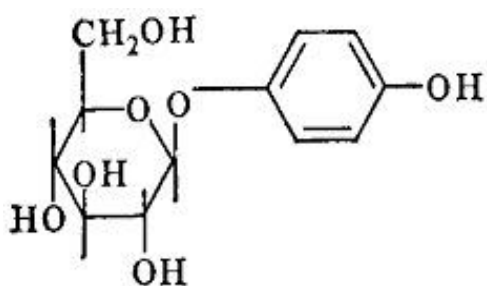
Фенольные гликозиды достаточно широко представлены в растениях различных семейств, например, ивовых, камнеломковых, толстянковых, брусничных и др.

Общая формула гликозидов:

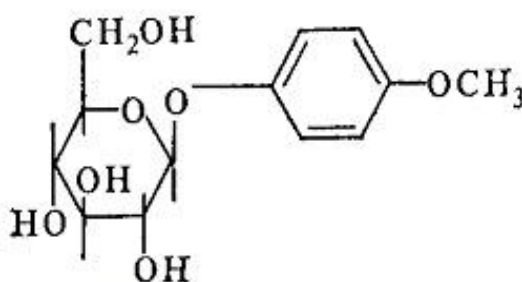


В зависимости от характера заместителей в бензольном кольце фенолгликозиды можно разделить на 3 группы.

К первой группе относится арбутин, содержащийся в листьях толстянки, брусники и бадана. Наряду с арбутином в этих растениях присутствует метиларбутин. Агликонами этих гликозидов являются соответственно гидрохинон и метилгидрохинон.

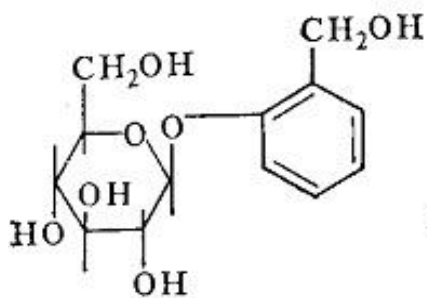


Арбутин

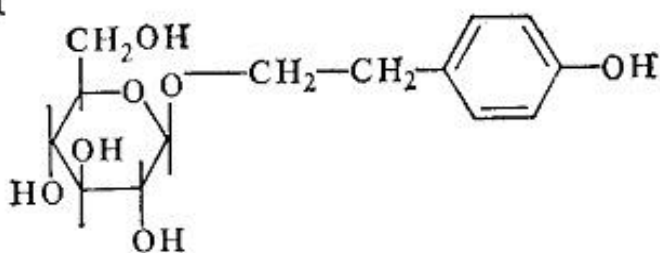


Метиларбутин

Вторая группа фенольных гликозидов представлена, например, салидрозидом и салицином. Агликаны этих гликозидов 4-оксифенилэтанол и 2-оксифенилметанол (салициловый спирт). Наряду с фенольными гидроксильными группами эти агликаны имеют спиртовые гидроксильные группы, и гликозидирование их может быть по фенольным и спиртовым группам:

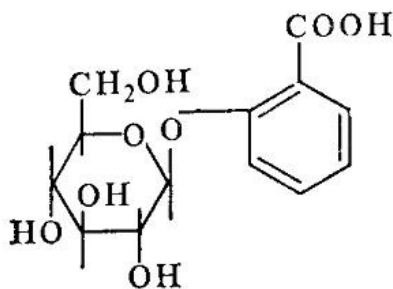


Салицин



Салирозид

Представителем третьей группы является гликозид салициловой кислоты, агликон которого содержит карбоксильную группу:



Гликозид салициловой кислоты

Гликозид салициловой кислоты

Фенольные гликозиды в индивидуальном состоянии представляют собой белые кристаллические вещества, растворимые в воде, этиловом спирте, ацетоне, нерастворимые в этиловом эфире и хлороформе. Все фенольные гликозиды оптически активны в связи с присутствием в их молекуле углеводного компонента (как правило, глюкозы).

Фенольные гликозиды, например, арбутин, обладают антимикробной и диуретической активностью. Гликозид салидрозид, впервые изолированный из коры ивы и впоследствии обнаруженный в корневищах и корнях родиолы розовой, обладает стимулирующим и адаптогенным действием.

## 2.7. Лабораторная работа 9. Качественные реакции на гликозиды

**Цель работы:** проведение качественного анализа на наличие гликозидов в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы качественного анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** пробирки, штативы для пробирок, микроскоп, предметное стекло, спиртовка, 3-5 %-ный раствор щелочи, разбавленная азотная и соляная кислоты, этанол, раствор аммиака, железоаммониевые квасцы, 10 %-ный раствор соляной кислоты, Феллингова жидкость, баритовая вода, фосфорномолибденовокислый натрий в соляной кислоте, эфир, сульфат железа (II).

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Наличие гликозидов в сырье определяют методами гидролиза, с помощью цветных реакций и реакциями осаждения. Выявление гликозидов непосредственно в клетках растения сопряжено с большими трудностями и для многих групп гликозидов микрохимические реакции не разработаны. Они имеются лишь для некоторых гликозидов.

1. В лекарственном сырье *антрагликозиды* можно обнаружить под микроскопом при помощи реакции с водным раствором 3-5 %-ной едкой щелочи. Ткани, содержащие антрагликозиды, окрашиваются в вишнево-красный цвет. Реакцию можно проводить на срезах или с порошком.

2. *Антрагликозиды* в лекарственном сырье легко открываются также методом микросублимации. На предметное стекло берут порошок или грубый соскоб и помещают на асбестовую сетку; над стеклом на расстоянии 3 мм помещают другое предметное стекло.

Подставляют под сетку горелку так, чтобы пламя не доходило до сетки на 4 см. Антрагликозиды возгоняются в виде паров желтого цвета и минут через 5 на верхнем (холодном) предмете стекле они осаждаются в виде мелких кристаллов, которые со щелочью дают кроваво-красное окрашивание. Реакцию микросублимации можно провести в пробирке, которая с небольшим количеством порошка или грубого соскоба нагревается в горизонтальном положении (нагревать следует только дно пробирки). На холодных стенках пробирки будут концентрироваться антрагликозиды.

3. Разбавленная азотная кислота окрашивает клетки, содержащие *арбутин*, от темно-оранжевого до темно-красно-бурого цвета. Окраска появляется сразу и быстро переходит в светло-желтую. Наличие хлорофилла в тканях маскирует окраску.

4. Хорошие результаты дает также метод сублимации. Сам арбутин плохо сублимируется, но его *агликон* – *гидрохинон* легко возгоняется. Исследуемое сырье измельчают и порошок помещают на предметное стекло в каплю соляной кислоты (1 : 10), хорошо перемешивают и оставляют в покое на несколько минут. Происходит гидролиз арбутина. Затем стекло переносят на асбестовую сетку и дальнейшую процедуру проводят так же, как при микросублимации антрагликозидов. Гидрохинон возгоняется и осаждается в виде кристаллов мелких моноклинических листочков и призм, крестообразных сростков в виде «елки». При действии слабого раствора хлорного железа кристаллы растворяются, образуя черную окраску. От аммиака они сразу или в течение одного часа дают красновато-бурую окраску.

5. Путем осаждения абсолютным спиртом можно получить кристаллы *гесперидина* и наблюдать их непосредственно в клетках в виде иголочек или сферокристаллов.

6. *Гесперидин* можно обнаружить при действии аммиака, разбавленных щелочей, в которых он легко растворяется с образованием желтого окрашивания. Подобный результат получается при действии серной кислотой. Реакцию можно проводить на срезах, просматривая их в указанных реактивах.

7. Кислотное расщепление гликозидов. Готовят 2-4 % водное извлечение из сырья. Обычно берут 2 г исследуемого сырья и 25 мл воды, кипятят в течение 2-3 минут, после охлаждения фильтруют. По 2-3 мл фильтрата наливают в две пробирки; в одну пробирку добавляют 1-2 мл 10 % соляной кислоты, в другую – воду и кипятят в течение 1-2 минут. В каждую пробирку прибавляют раствор Феллинга (по 2,5 мл первого и второго) и нагревают до кипения. При наличии гликозидов происходит реакция восстановления меди: в пробирке с соляной кислотой появляется кирпично-красный осадок закиси меди.

Феллингова жидкость состоит из растворов, приготовленных отдельно:

1. 34,66 г перекристаллизованного сульфата меди растворяют в воде, поокисленной 2-3 каплями разведенной серной кислотой, и разбавляют водой до 500 мл.

2. 173 г сегнетовой соли (натрия – калия тартрат) и 50 г едкого натра растворяют в 400 мл воды, после охлаждения разбавляют водой до 500 мл. Реактивом служит смесь равных объемов двух растворов. Смесь готовят перед употреблением.

Проба основана на освобождении полуацетального гидроксила в сахарной части гликозида (после его гидролиза), за счет которого идет восстановление окиси меди до закиси.

8. *Гликозиды* дают осадки с баритовой водой (5 г гидрата окиси бария взбалтывают со 100 мл воды) и с уксуснокислым свинцом.

Однако с этими веществами подобно реагируют алкалоиды, дубильные вещества, поэтому реакции не являются специфичными для гликозидов.

9. Реакции на *арбутин*. Обычно готовят 5 % водное извлечение из сырья. 0,5 г грубо измельченного сырья или порошка кипятят с 10 мл воды в течение 5-10 минут, после охлаждения фильтруют. К 1 мл охлажденного фильтрата добавляют маленький кристаллик сульфата закисного железа; при этом проявляется красно-фиолетовое, затем фиолетовое окрашивание, переходящее в темно-фиолетовый осадок. Реакция позволяет открыть арбутин в присутствии дубильных веществ (толокнянка, брусника, бадан).

В 1 мл фильтрата добавляют 4 мл раствора аммиака и 1 мл 10 % раствора фосфорномолибденовокислого натрия в соляной кислоте, образуется синее окрашивание (обе пробы на арбутин проводят в фарфоровой чашке).

10. Реакции на *антрагликозиды*. Готовят 5-10 % водное извлечение из сырья путем кипячения в течение 3-5 минут, после охлаждения фильтруют. К 1-2 мл фильтрата прибавляют 3-5 % раствор едкого натра или едкого кали; образуется вишнево-красное окрашивание.

0,1 г порошка сырья кипятят в течение нескольких минут с 10 мл спиртового раствора едкого натра и фильтруют. При охлаждении фильтрат подкисляют разведенной соляной кислотой до слабокислой реакции взбалтывают с 10 мл эфира: при этом эфир принимает желтое окрашивание. Отбирают 5 мл отделенного эфирного извлечения взбалтывают с равным объемом раствора аммиака, последний принимает устойчивое вишнево-красное окрашивание (эмодины). Желтый цвет эфирного слоя при этом не изменяются (хризофанол). Реакции основаны на взаимодействии щелочи с гидроксилами производных антрахинона. Последняя реакция дает возможность дифференцировать отдельные производные антрахинона. Последняя реакция дает возможность дифференцировать отдельные производные атрахинона, что зависит от различной растворимости в органических растворителях и их отношении к раствору аммиака.

**Задание:** с помощью качественного анализа в предложенном образце растительного сырья установите наличие гликозидов. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

## 2.8. Лабораторная работа 10. Определение гликозидов

**Цель работы:** определение содержания гликозидов в листьях брусники.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** шариковый холодильник, электрическая плитка, фильтр, колбы на 100 мл, полумикробюретки, воронки стеклянные, бумага фильтровальная, лакмусовая бумага, раствора ацетата свинца, серная кислота концентрированная, сульфат железа (II), цинковая пыль, натрия гидрокарбонат, 0,1 н раствор йода, 1 %-ный раствор крахмала.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

0,5 г сырья помещают в колбу объемом 100 мл, заливают 50 мл воды и кипятят 30 мин. Горячее извлечение фильтруют в колбу на 100 мл, избегая попадания растительного материала на фильтр. Растительный материал в колбе заливают 25 мл воды и кипятят 20 мин.

Горячее извлечение вместе с растительным материалом переносят на фильтр, фильтруют и остаток на фильтре промывают дважды горячей водой по 10 мл.

К фильтрату в мерной колбе добавляют 3 мл раствора ацетата свинца, перемешивают и по охлаждении доводят объем до метки. Колбу нагревают на кипящей водяной бане до полного растворения осадка.

Горячую жидкость фильтруют в колбу, охлаждают, добавляют 1 мл серной кислоты (конц.), колбу взвешивают, соединяют с обратным холодильником и кипятят при слабом кипении 1,5 ч.

После охлаждения потерю в объеме восстанавливают добавлением воды и жидкость фильтруют, к фильтрату добавляют 0,1 г цинковой пыли и встряхивают 5 мин. Жидкость нейтрализуют по лакмусовой бумаге гидрокарбонатом натрия, добавляют еще 2 г гидрокарбоната натрия и, после его растворения, фильтруют в сухую колбу.

К 50 мл фильтрата прибавляют 200 мл воды и медленно титруют из полумикробюретки 0,1 н раствором йода до синего окрашивания, не исчезающего 1 мин (индикатор – крахмал). 1 мл 0,1 н раствора йода соответствует 0,01361 арбутина.

Содержание арбутина рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,01361 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}$$

где  $V$  – объем 0,1 н. раствора йода, пошедшего на титрование, мл;  
0,01361 – коэффициент пересчета на арбутин;  
 $m$  – масса навески, г.  
 $W$  – влажность сырья, %

**Задание:** определите содержание арбутина в предложенном образце растительного сырья. Сделайте заключение о соответствии сырья НТД [7].

## 2.9. Дубильные вещества

Дубильные вещества представляют группу весьма разнообразных и сложных по составу растворимых в воде органических веществ ароматического ряда, содержащих гидроксильные радикалы фенольного характера.

Дубильные вещества широко распространены в растительном царстве, обладают характерным вяжущим вкусом. Они способны осаждаться из водного или водно-спиртового раствора раствором клея, а с солями окиси железа давать различных оттенков зелёные или синие окрашивания и осадки (чернильного свойства).

***Дубильные вещества** – аморфные вещества желтого и бурого цвета, растворимые в воде, этаноле, ацетоне, пиридине, бутаноле и этилацетате и нерастворимые в хлороформе, бензоле, диэтиловом эфире и других неполярных растворителях.*

Природные дубильные вещества имеют среднюю молекулярную массу 500-4000, хотя могут быть соединения с молекулярной массой до 20000. Многие дубильные вещества оптически активны, легко окисляются на воздухе, образуя темнокрашенные продукты. Кроме того, они осаждаются растворами белка, алкалоидов. С солями тяжелых металлов образуют окрашенные комплексы. На этих физико-химических свойствах основаны качественные реакции на дубильные вещества.

Дубильные вещества, или таниды, растительные высокомолекулярные соединения, способные осаждать белки, алкалоиды и обладающие вяжущим вкусом.

Термин *дубильные вещества* отражает способность этих соединений модифицировать (дубить) невыделанные шкуры животных, превращая их в кожу.

*Дубление* – сложный физико-химический процесс. Завершающая стадия этого процесса – образование устойчивой поперечно сшитой специфической структуры за счет возникновения водородных, возможно также ковалентных и электронных, связей между молекулами коллагена и фенольными группами дубильных веществ. Однако следует отметить, что такие связи могут образоваться только в тех, случаях, когда молекулы достаточно велики, чтобы присоединить соседние цепочки коллагена, и имеют достаточное количество фенольных групп для образования поперечных связей. Наиболее активно в процессе дубления участвуют вещества с молекулярной массой от 500 до 3000.

Дубильные вещества находятся в вакуолях, а при старении клеток адсорбируются на клеточных стенках. В большом количестве они накапливаются в подземных органах, коре, древесине, но могут обнаруживаться в листьях и плодах. Содержание дубильных веществ обычно значительно и зависит от климатических и генетических факторов, а также от возраста растения. Растущие на солнце растения накапливают больше дубильных веществ, чем обитающие в тени. В тропических растениях значительно больше дубильных веществ. На содержание последних оказывает влияние и высота над уровнем моря, а также время года, особенно в областях с выраженной сезонностью климата.

Лекарственное сырье, содержащее дубильные вещества, применяют для получения препаратов, используемых как вяжущие, кровоостанавливающие, противовоспалительные, антимикробные средства. Сырье, содержащее конденсированную группу дубильных веществ, может применяться как антиоксидант. Кроме того, установлено, что гидролизуемые и конденсированные дубильные вещества проявляют высокую Р-витаминную активность, антигипоксическое и антисклеротическое действие. Конденсированные дубильные вещества, построенные из флаван-3-ола, проявляют противоопухолевый эффект. Дубильные вещества

можно использовать как противоядие при отравлении гликозидами, алкалоидами и солями тяжелых металлов.

В медицине лекарственные растения, содержащие дубильные вещества, используются как вяжущее, кровоостанавливающее, бактерицидное и противовоспалительное средство. Внутрь их применяют в основном при отравлении солями металлов и растительными ядами, а также при заболеваниях желудочно-кишечного тракта; наружно – при кровотечениях, ожогах, воспалении слизистых оболочек [12].

## 2.10. Лабораторная работа 11.

### Качественные реакции на дубильные вещества

**Цель работы:** определение содержания дубильных веществ в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** 1 %-й раствор желатина на 10 %-ном растворе хлорида натрия, 40 % раствор формальдегида, концентрированная соляная кислота, 0,1 н раствор соляной кислоты, бромная вода, раствор хлорида железа (III), раствор 70 %-ной серной кислоты, 0,1 н раствор серной кислоты, нитрозометилуретан, раствор белка, кристаллы нитрита натрия, уксусная кислота, 10 %-ный раствор ацетата свинца, 10 %-ный раствор уксусной кислоты, 1 %-ный раствор железоаммонийных квасцов.

### Методические рекомендации для выполнения работы:

Качественные реакции на дубильные вещества можно подразделить:

1. Общие реакции осаждения – для обнаружения дубильных веществ.
2. Групповые – для установления принадлежности дубильных веществ к определенной группе

Для обнаружения дубильных веществ в растительном сырье используют следующие реакции:

1. Специфической реакцией на дубильные вещества является реакция осаждения желатином. Используют 1 %-й раствор желатина на 10 %-ном растворе хлорида натрия. Появляется хлопьевидный осадок, растворимый в избытке желатина. Отрицательная реакция с желатином свидетельствует об отсутствии дубильных веществ.

2. Реакция с солями алкалоидов. Образуется аморфный осадок за счет образования водородных связей с гидроксильными группами дубильных веществ и атомами азота алкалоида. Эти реакции дают одинаковый результат независимо от группы дубильных веществ.

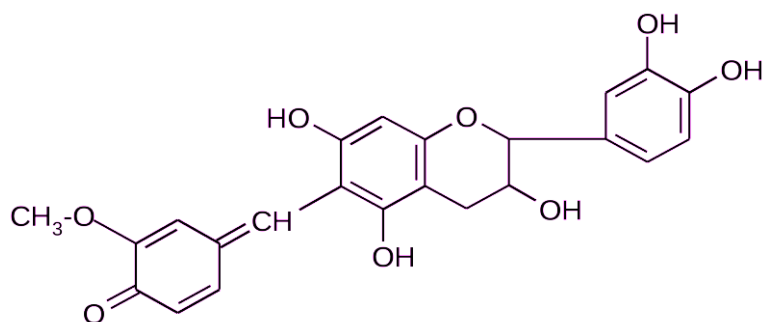
Реакции, позволяющие определить группу дубильных веществ.

1. Реакция Стиасни – с 40 % раствором формальдегида и концентрированной соляной кислотой. Конденсированные дубильные вещества образуют осадок кирпично-красного цвета

2. Бромная вода (5 г брома в 1 л воды) – к 2-3 мл испытуемого раствора прибавляют по каплям бромную воду до появления в растворе запаха брома; в случае присутствия конденсированных дубильных веществ образуется оранжевый или желтый осадок.

3. Окрашивание с солями трехвалентного железа, железоаммонийными квасцами – черно-синее (дубильные вещества гидролизуемой группы, которые являются производными пирогаллола) или черно-зеленое (дубильные вещества конденсированной группы, которые являются производными пирокатехина).

4. Катехины дают красное окрашивание с ванилином (в присутствии конц. соляной или 70 %-ной серной кислотой развивается яркая красная окраска). Катехины образуют при этой реакции окрашенный продукт следующего строения:



5. Реакцией отличающей пирогалловые таннины от пирокатехиновых является реакция нитрозометилуретаном. При кипячении растворов дубильных веществ с нитрозометилуретаном таннины пирокатехинового ряда осаждаются полностью, а присутствие пирогалловых таннинов можно обнаружить в фильтрате путем прибавления железосаммиачных квасцов и натрия ацетата – фильтрат окрашивается в фиолетовый цвет.

6. Свободная эллаговая кислота дает красно-фиолетовую окраску при добавлении нескольких кристаллов нитрита натрия и трех-четырех капель уксусной кислоты.

7. Для обнаружения связанной эллаговой кислоты (или гексаоксидифеновой) уксусную кислоту заменяют 0,1 н. серной или соляной кислотой (кармино-красная окраска, переходящая в синюю).

8. Дубильные вещества с белками создают непроницаемую для воды пленку (дубление). Вызывая частичное свертывание белков, они образуют на слизистых оболочках и раневых поверхностях защитную пленку.

9. При соприкосновении с воздухом (например, резке свежих корневищ) дубильные вещества легко окисляются, превращаясь во флорафены или красены, которые обуславливают темно-бурую окраску коры многих растений и других органов, настоев.

Флорафены не растворимы в холодной воде, растворяются в горячей воде, окрашивая отвары и настои в бурый цвет.

10. С 10 %-ным раствором среднего ацетата свинца (одновременно добавляют 10 %-ный раствор уксусной кислоты): образуется белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте – дубильные вещества гидролизуемой группы (осадок отфильтровывают и в фильтрате определяют содержание конденсированных дубильных веществ, с 1 %-ным раствором железосаммиачных квасцов – черно-зеленое окрашивание); белый осадок, растворимый в уксусной кислоте – дубильные вещества конденсированной группы.

Для идентификации отдельных соединений используют хроматографический анализ, рассматривая в УФ-свете. Обработку хроматограмм производят раствором железа хлорида или ванилиновым реактивом. Структуру устанавливают с помощью ИК-спектров, ПМР-спектров.

**Задание:** с помощью качественного анализа в предложенном образце растительного сырья установите наличие дубильных веществ. Сделайте заключение о соответствии сырья требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

## 2.11. Лабораторная работа 12. Определение дубильных веществ

**Цель работы:** определение содержания дубильных веществ в растительном сырье.

**Методические материалы:** ГФ РФ XIV [7], ГОСТ 24027.2-80 [8].

**Оборудование и реактивы:** круглодонная колба объемом 250 мл, колба объемом 500 мл, водяная баня, шариковый холодильник, электрическая плитка, бюретка, колбы для титрования, каолин, 0,1 % раствор индигокармина, 0,1 н раствор калия марганцовокислого.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Определение дубильных веществ методом Левенталья проводят в водной вытяжке. 2 г сырья заливают 90 мл холодной дистиллированной воды и экстрагируют при умеренном кипячении с обратным холодильником в течение 30 мин. Затем раствор охлаждают и фильтрат

переносят в мерную колбу на 250 мл. Трехразовая экстракция обеспечивает полное извлечение дубильных веществ, которое контролируют по реакции с желатиновым раствором.

В полученном экстракте определяют содержание дубильных веществ титриметрическим методом.

*Определение таннидов.* Отбирают пипеткой 25 мл полученной жидкости в другую коническую колбу вместимостью 1,5 л, добавляют 1 л воды, 25 мл раствора индигокармина и титруют при постоянном перемешивании 0,04 н раствором калия марганцовокислого до золотисто-желтого окрашивания. Параллельно определяют индиго-число (холостой опыт). Содержание таннидов определяют по формуле:

$$T = \frac{(a - b) \cdot 0,0024 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 25}$$

где а – объем точно 0,04 н раствора марганцовокислого калия, израсходованный на титрование извлечения, мл;

б – объем точно 0,04 н раствора марганцовокислого калия, израсходованный на титрование в контрольном опыте, мл;

0,0024 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл точно 0,04 н раствора марганцовокислого калия (в пересчете на танин), г;

т - масса сырья, г;

250 – вместимость мерной колбы, мл;

25 – объем жидкого извлечения, взятого для титрования, мл

*Определение растворимых веществ.* 50 мл свежеприготовленной вытяжки смешивают в колбе или стакане с 2 г каолина и смесь выливают на складчатый фильтр. Первые 25 мл собирают в ту же колбочку, снова сливают на фильтр. Эту операцию повторяют несколько раз. На фильтр переносят весь каолин. Оптически прозрачный фильтрат собирают в сухую колбу. На темном фоне раствор не должен давать опалесценцию. 25 мл фильтрата пипеткой переносят в заранее взвешенную фарфоровую чашку и выпаривают до сухого остатка. Остаток сушат до постоянной массы при температуре 100-105 °С.

Количественное содержание растворимых веществ рассчитывают по формуле:

$$P = \frac{m \cdot 250 \cdot 100}{g \cdot 25}$$

где т – количество сухого вещества в 25 мл вытяжки, г;

g – масса сырья, г;

Содержание нетаннидов НТ, % рассчитывают по разности между содержанием растворимых веществ и таннидов:

$$НТ = Р - Т$$

Доброкачественность Д %, определяют по формуле:

$$Д = \frac{T \cdot 100}{P}$$

**Задание:** определите содержание дубильных веществ в предложенном образце растительного сырья. Рассчитайте содержание таннидов, нетаннидов. Сделайте заключение о доброкачественности сырья в соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

## 2.12. Алкалоиды

*Алкалоидами* называются основные азотсодержащие вещества растительного происхождения. В растениях алкалоиды содержатся в виде солей органических кислот - лимонной, яблочной, щавелевой и др. Благодаря высокой фармакологической активности алкалоиды известны с давних времен и используются в медицине.

Важнейшим структурным фрагментом большинства алкалоидов служит какой-либо азотсодержащий гетероцикл. Этот признак положен в основу химической классификации

алкалоидов, по которой они подразделяются на группы в соответствии с типом гетероцикла в их структуре, например, пиридина, хинолина и т.д. Такие алкалоиды имеют единство в биогенетическом происхождении от аминокислот, их называют *истинными алкалоидами*.

Наряду с этим существуют алкалоиды, у которых атом азота *не включен* в гетероциклическую структуру. Эти алкалоиды представляют собой растительные амины, их относят к *протоалкалоидам*.

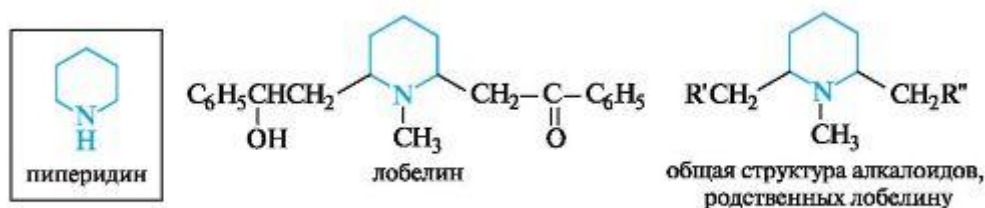
#### Алкалоиды группы *пирролидина, пиридина и пиперидина*.

*Никотин* – весьма токсичный алкалоид, содержание которого в листьях табака доходит до 8%. Включает связанные простой связью ядра *пиридина* и *пирролидина*. Воздействует на вегетативную нервную систему, сужает кровеносные сосуды.

*Никотиновая кислота* (одна из форм витамина PP) является одним из продуктов окисления никотина и используется для синтеза других препаратов.



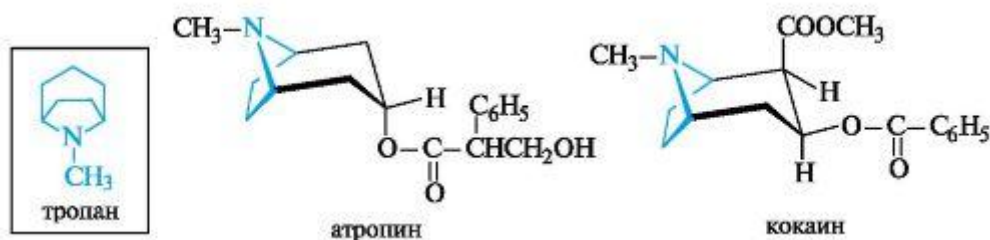
*Лобелин* и родственные ему алкалоиды обнаружены в североамериканском растении лобелия. Они близки по структуре и используются в медицине в качестве эффективных рефлекторных стимуляторов дыхания.



*Алкалоиды группы тропана*. Базовая структура алкалоидов этой группы *тропана* является бициклическое соединение, в состав которого входят *пирролидиновое* и *пиперидиновое* кольца.



К тропановым алкалоидам относятся *атропин* и *кокаин*, применяемые в медицине как холиноблокаторы.

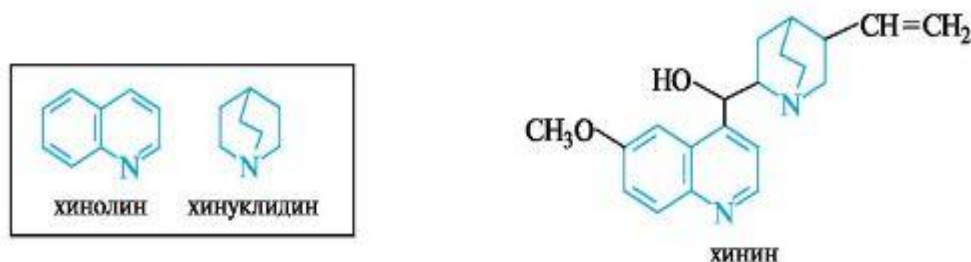


Атропин содержится в растениях семейства пасленовых: красавке, белене, дурмане. Несмотря на высокую токсичность, он широко применяется в глазной практике, благодаря способности расширять зрачок.

*Кокаин* – алкалоид южноамериканского кустарника *Erythroxylon coca* Lam. Это одно из первых, используемых в медицине анестезирующих и наркотических средств. Синтетические

аналоги кокаина, лишенные наркотических свойств, являются производными п-аминобензойной кислоты.

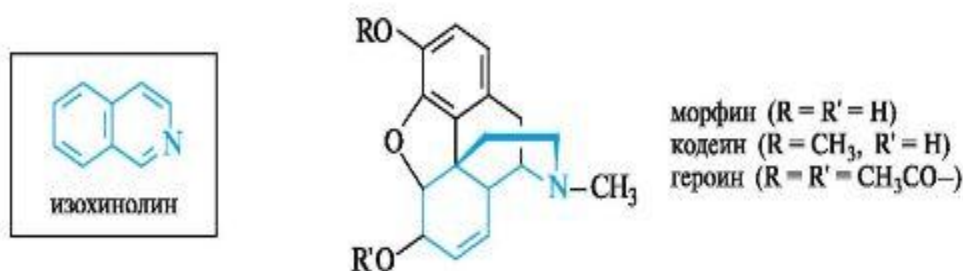
**Алкалоиды группы хинолина и изохинолина.** Наибольшую известность из хинолиновых алкалоидов получил *хинин*, выделенный из коры хинного дерева. В состав хинина входят две гетероциклические системы – *хинолиновая* и *хинуклидиновая*.



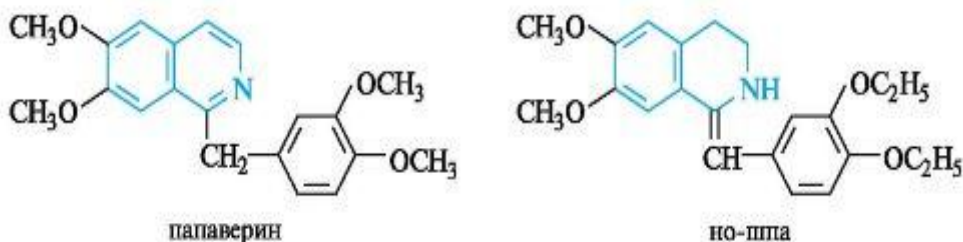
Хинин используется в медицине более 300 лет в качестве противомаларийного средства. В настоящее время из-за ряда негативных побочных эффектов его использование сократилось и на смену ему пришли новые синтетические противомаларийные препараты.

Ядро изохинолина содержится в алкалоидах опия, представляющего собой высохший млечный сок незрелых коробочек мака опийного. Основной из них – **морфин** – обладает сильным обезболивающим свойством, но при длительном употреблении вызывает привыкание. Морфин был первым алкалоидом, выделенным в чистом виде (1806) и был назван по имени бога сна и сновидений Морфея.

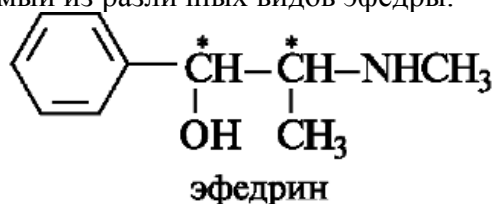
Монометилловый эфир морфина – **кодеин** – оказывает противокашлевое действие, а диацетильное производное – **героин** – наркотик.



Другим алкалоидом группы изохинолина, также выделенным из опия, служит **папаверин**, применяемый в качестве эффективного спазмолитического средства. Синтетический аналог папаверина **но-шпа** имеет с ним явное структурное сходство.



**Протоалкалоиды.** В эту группу алкалоидов входят растительные основания, не имеющие в своей структуре какого-либо гетероцикла. Важнейшим их представителем является **эфедрин**, выделяемый из различных видов эфедры.



В молекуле эфедрина содержатся два хиральных центра, в соответствии с этим эфедрин существует в виде четырех стереоизомеров и двух рацематов. Наибольшей фармакологической активностью обладает природный эфедрин, являющийся одним из стереоизомеров.

### 2.13. Лабораторная работа 13. Качественные реакции на алкалоиды

**Цель работы:** проведение качественного анализа на содержание алкалоидов в растительном сырье.

**Реактивы:** раствор калия йодида йодированный, раствор калия йодвисмутата (реактив Драгендорфа), раствор ртути йодида в калия йодиде (реактив Майера), раствор кадмия йодида в калия йодиде (реактив Марме), фосфорномолибденовая кислота, фосфорновольфрамовая кислота, кремневольфрамовая кислота, свежеприготовленный 5% раствор танина, насыщенный раствор пикриновой кислоты, концентрированная серная кислота и азотная кислота, смесь концентрированных серной и азотной кислот (реактив Эрсмана), раствор молибдата аммония в концентрированной серной кислоте (реактив Фреде), раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте (реактив Марки), раствор п-диметиламинобензальдегида в концентрированной серной кислоте (реактив Вазицки).

#### **Методические рекомендации для выполнения работы:**

Для установления подлинности алкалоидов используют *общие, групповые и частные или специфические реакции*.

**Общие реакции** основаны на способности алкалоидов как оснований образовывать простые или комплексные соли с различными, чаще комплексными кислотами, солями тяжелых металлов и др. Эти продукты, как правило, нерастворимы в воде, поэтому реактивы называют **осадительными**, а реакции - осадочными.

#### **Общеалкалоидные осадительные реактивы:**

1. Раствор калия йодида йодированный (реактив Люголя, Вагнера, Бушарда).
2. Раствор калия йодвисмутата (реактив Драгендорфа).
3. Раствор ртути йодида в калия йодиде (реактив Майера).
4. Раствор кадмия йодида в калия йодиде (реактив Марме).
5. Фосфорномолибденовая кислота (реактив Зонненштейна  $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) – очень чувствительный реактив на алкалоиды и дает аморфные осадки желтоватого цвета, которые через некоторое время приобретают синее и зеленое окрашивание (вследствие восстановления молибденовой кислоты).
6. Фосфорновольфрамовая кислота (реактив Шейблера  $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).
7. Кремневольфрамовая кислота (реактив Бертрана  $\text{SiO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ).
8. Свежеприготовленный 5 % раствор танина.
9. Насыщенный раствор пикриновой кислоты.

Перечисленные реактивы образуют осадки не со всеми алкалоидами, поэтому при определениях нельзя ограничиваться 1-2 пробами, а необходимо провести реакцию не менее чем с 4-5 реактивами. Аналитическое значение имеет лишь отрицательный результат этих реакций, поскольку с общеалкалоидными реактивами могут давать осадки и другие азотсодержащие органические вещества. Для алкалоидов также характерны цветные реакции со специальными реактивами. В основе этих реакций лежат следующие химические превращения: отнятие воды; окисление; отнятие воды и окисление одновременно; конденсация с альдегидами в присутствии водоотнимающих веществ.

#### **Специальные реактивы:**

1. Концентрированная серная кислота.
2. Концентрированная азотная кислота.
3. Смесь концентрированных серной и азотной кислот (реактив Эрсмана).
4. Раствор молибдата аммония в концентрированной серной кислоте (реактив Фреде).
5. Раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте (реактив Марки).

6. Раствор п-диметиламинобензальдегида в концентрированной серной кислоте (реактив Вазицки).

Для некоторых алкалоидов эти реакции могут быть специфичными; проводят их с кристаллическими веществами в фарфоровых чашках.

**Задание:** определите с помощью качественных реакций наличие алкалоидов в предложенном образце растительного сырья.

#### 2.14. Лабораторная работа 14. Определение алкалоидов

**Цель работы:** определение содержания алкалоидов в растительном сырье (травя чистотела).

**Методические материалы:** ГФ РФ XIV [7].

**Оборудование и реактивы:** коническая колба вместимостью 100 мл, делительная воронка, установка для титрования, ротонный испаритель, 1 % раствора аммиака, хлороформ, 5 % раствор серной кислоты, 25 % раствор аммиака, ледяная уксусная кислота, ацетонитрила, раствор хлорной кислоты.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 4,0 г измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, смачивают 7 мл 1 % раствора аммиака, закрывают пробкой и выдерживают в течение 15 мин. Затем прибавляют 80 мл хлороформа, перемешивают и оставляют на 16-17 часов при комнатной температуре.

Извлечение фильтруют через тампон из стеклянной ваты. 50 мл извлечения переносят в делительную воронку, алкалоиды тщательно извлекают и алкалоиды тщательно извлекают хлороформом.

Объединённые хлороформные извлечения переносят в круглодонную колбу и отгоняют хлороформ досуха на ротационном испарителе. Сухой остаток количественно переносят в стакан для титрования и последовательно добавляют 5 мл хлороформа, 10 мл ледяной уксусной кислоты, 10 мл ацетонитрила и титруют потенциометрическим методом раствором хлорной кислоты (0,05 моль/л).

Параллельно проводят контрольный опыт. Содержание суммы алкалоидов в пересчете на хелидонин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,01765 \cdot 80 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 50 \cdot (100 - W)}$$

где, 0,01765 – количество алкалоидов в пересчете на хелидонин, соответствующее 1 мл раствора хлорной кислоты (0,05 моль/л), в граммах;

V – объем хлорной кислоты (0,05 моль/л), пошедшей на титрование суммы алкалоидов, мл;

V<sub>1</sub> – объем хлорной кислоты (0,05 моль/л), пошедшей на титрование контрольного опыта; мл; m – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

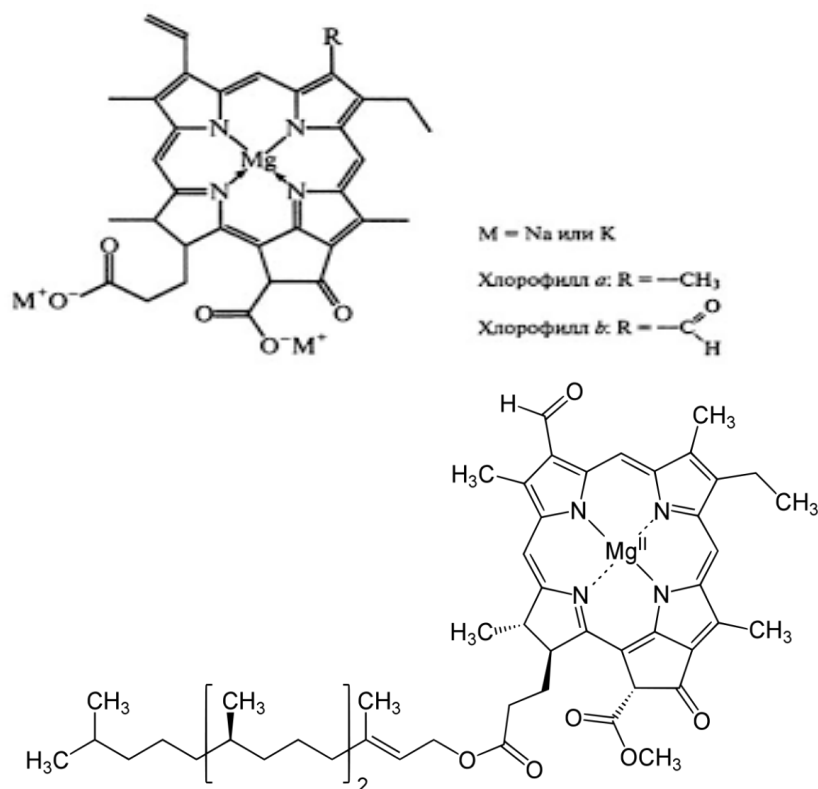
**Задание:** определите содержание алкалоидов в предложенном образце чистотела. Сделайте заключение о доброкачественности сырья в соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

#### 2.15. Пигменты

В настоящее время известно около 10 хлорофиллов. Они отличаются по химическому строению, окраске и распространению среди живых организмов. У всех высших растений содержатся *хлорофиллы a* и *b*. *Хлорофилл c* содержится в диатомовых водорослях, *хлорофилл d* – в красных водорослях.

По химическому строению хлорофиллы являются сложными эфирами дикарбоновой органической кислоты — хлорофиллина и двух остатков спиртов — фитола и метилового.

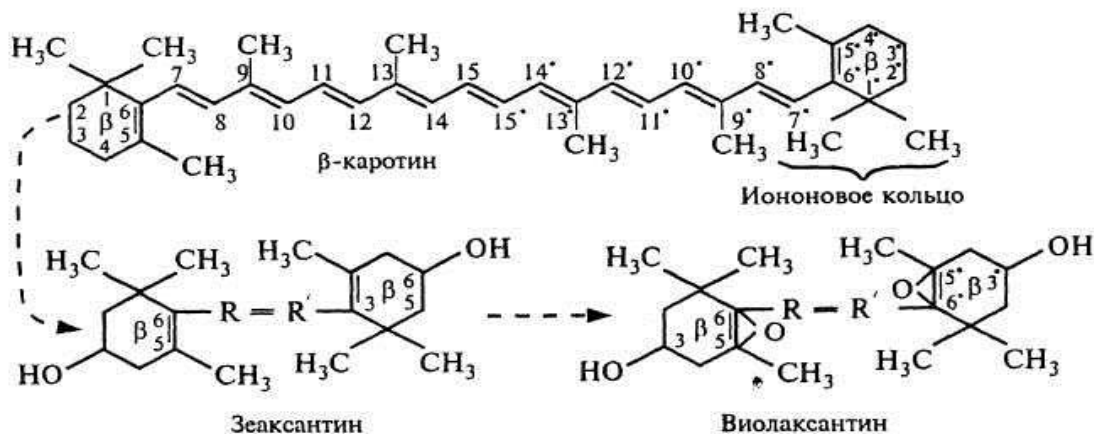
Эмпирическая формула —  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ . Хлорофиллин представляет собой азотсодержащее металлоорганическое соединение, относящееся к магнипорфиринам.



В клетках зеленых бактерий содержатся *бактериохлорофиллы c и d*. В клетках пурпурных бактерий – *бактериохлорофиллы a и b*. Основными пигментами, без которых фотосинтез не идет, являются *хлорофилл a* для зеленых растений и *бактериохлорофилл* для бактерий.

Наряду с зелеными пигментами в хлоропластах и хромофорах содержатся пигменты, относящиеся к группе каротиноидов. Это желтые и оранжевые пигменты алифатического строения, производные изопрена с разнообразными функциями. Каротиноиды, содержащие кислород, получили название ксантофиллы.

Основными представителями каротиноидов у высших растений являются каротин (оранжевый) и ксантофилл (желтый). Каротин состоит из восьми изопреновых остатков. При разрыве углеродной цепочки пополам и образовании на конце спиртовой группы каротин превращается в две молекулы витамина А.



**Структурные формулы каротиноидов и последовательность их превращений**

В настоящее время установлено, что каротиноиды, поглощая определенные участки солнечного спектра, передают энергию этих лучей на молекулы хлорофилла. Тем самым они способствуют использованию лучей, которые хлорофиллом не поглощаются.

Каротиноиды выполняют защитную функцию, предохраняя различные органические вещества, в первую очередь молекулы хлорофилла, от разрушения на свету в процессе фотоокисления.

Опыты, проведенные на мутантах кукурузы и подсолнечника, показали, что они содержат протохлорофиллид (предшественник хлорофилла), который на свету переходит в хлорофилл а, но разрушается. Последнее связано с отсутствием способности исследованных мутантов к образованию каротиноидов. Ряд исследователей указывают, что каротиноиды играют определенную роль в половом процессе у растений. Известно, что в период цветения высших растений содержание каротиноидов в листьях уменьшается. Одновременно оно заметно растет в пыльниках, а также в лепестках цветков.

## **2.16. Лабораторная работа 15. Качественные реакции на пигменты**

**Цель работы:** проведение качественного анализа на наличие пигментов в растительном сырье (листья крапивы, плоды шиповника).

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** водяная баня с лабораторным термометром; штатив с пробирками, капельницы, пипетки вместимостью 5 мл, электронные весы, ступка с пестиком, этанол, 96 %-ный; бензин; гидроксид бария, насыщенный раствор; аскорбиновая кислота, кристаллическая; 10 %-ный раствор соляной кислоты, хлороформ.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

1. Экстрагирование пигментов из листьев крапивы. Метод основан на способности хлорофилла и других пигментов под действием горячего спирта переходить в раствор, при этом хлорофилл при взаимодействии со спиртом превращается в этилхлорофиллид – сложный эфир, в котором остаток фитола замещен остатком этилового спирта.

0,5 г сушеной крапивы растирают в ступке с 5,0 мл этилового спирта, переносят в пробирку и нагревают на водяной бане при 90-100 °С до закипания спирта. Содержимое фильтруют через бумажный фильтр в другую пробирку. Фильтрат, содержащий хлорофиллид, ксантофилл и другие пигменты, имеет зеленый цвет с интенсивной красной флюоресценцией. Его используют для исследования.

2. Разделение пигментов по Краусу. Метод основан на различной способности пигментов растворяться в бензине: хлорофилл, хлорофиллид растворимы, а ксантофилл нерастворим в нем.

К 10 каплям полученного фильтрата прибавляют равный объем бензина, содержимое тщательно встряхивают, постукивая пальцем по дну пробирки. Наблюдают за окраской пигментов, содержащихся в разных растворителях.

3. Осаждение хлорофилла. Метод основан на способности эфирных групп при омылении раствором гидроксида бария образовывать бариевые соли хлорофиллидов *a* и *b*, нерастворимых в воде; жидкость над осадком имеет желтую окраску вследствие присутствия в вытяжке каротина и ксантофилла.

К 10 каплям фильтрата добавляют 20 капель раствора гидроксида бария и тщательно взбалтывают. Наблюдают за происходящими изменениями.

4. Восстановление хлорофилла аскорбиновой кислотой. Метод основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать хлорофилл, приобретающий вследствие этого желтое окрашивание.

К 10 каплям фильтрата добавляют 2 капли воды, несколько кристалликов аскорбиновой кислоты и в течение 3-5 мин нагревают в водяной бане при 70-80 °С. Наблюдают за изменением окраски.

5. Получение феофитина из хлорофилла. Метод основан на способности соляной кислоты связывать ион магния, входящий в состав хлорофилла, с образованием феофитина, имеющего оливково-бурый цвет.

К 5 каплям фильтрата прибавляют 1 каплю раствора соляной кислоты. Наблюдают за изменением окраски.

6. В сухую пробирку помещают кусочек плодов шиповника и добавляют хлороформ до  $\frac{1}{2}$  объема пробирки. Встряхивают, пока жидкость не окрасится каротиноидами в оранжевый цвет. Несколько капель экстракта вводят в другую пробирку и добавляют каплю серной кислоты. Образуется синее окрашивание.

7. Наличие ненасыщенных связей в каротине можно обнаружить по его способности обесцвечивать бромную воду. Для этого плоды шиповника экстрагируют хлороформом. Полученный оранжевый раствор каротина отделяют фильтрованием. К фильтрату добавляют каплю бромной воды и встряхивают. Каротин и бромная вода обесцвечиваются.

**Задание:** с помощью качественного анализа в предложенном образце растительного сырья установите наличие пигментов. В выводах обосновать значение хлорофилла и других пигментов для фотосинтетических процессов.

## 2.17. Лабораторная работа 16. Определение пигментов

**Цель работы:** определение содержания пигментов в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** спектрофотометр КФК-3, этиловый спирт, 80 %-ный ацетон, этиловый эфир.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Определение пигментов в растительном сырье основана на измерении оптической плотности экстракта на спектрофотометре. Определение хлорофиллов производят за красным светофильтром, каротиноидов – за синим: оптическая плотность регистрируется по красной шкале прибора.

Рассчитывают концентрацию пигмента в каждом разбавлении, исходя из величины оптической плотности, полученной на спектрофотометре, согласно методике предложенным [12].

В связи с тем, что пигменты в растительной клетке связаны с липопротеидами, их полное извлечение возможно лишь при использовании полярных растворителей. Существует много способов фиксации материала и экстракции. Выбор одного из них зависит от задачи исследования и объекта.

0,3 – 0,5 г сырья тщательно растирают в фарфоровой ступке с 5 мл 96 %-ного спирта (80 %-ного ацетона или этилового эфира), чистым кварцем (битым стеклом) и мелом до истощения сырья. Мел добавляется для нейтрализации органических кислот, которые могут привести к разрушению (феофитинизации) хлорофилла.

Экстракты количественно переносят в мерную колбу на 50 мл и объем вытяжки доводят чистым растворителем до метки. Полученная вытяжка содержит сумму зеленых и желтых пигментов.

Содержание хлорофиллов а и b и каротиноидов можно определить в исходной вытяжке пигментов без предварительного их разделения. Для этого измеряют оптическую плотность (D) экстракта на спектрофотометре при 2-х длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов а и b в красной области спектра и при длине волны максимума каротиноидов.

Концентрация пигментов в вытяжке также может быть определена на фотоэлектрокolorиметре по калибровочной кривой.

1. Концентрация пигментов в 80 %-ном ацетоне рассчитывают по формулам:

$$C_a = 12,70 \cdot D_{663} - 2,66 \cdot D_{645} \text{ [мг/л]}$$

$$C_b = 22,90 \cdot D_{645} - 4,68 \cdot D_{663} \text{ [мг/л]}$$

$$C_{a+b} = 8,02 \cdot D_{663} + 20,20 \cdot D_{645} \text{ [мг/л]}$$

2. Концентрация пигментов в 96 %-ном этиловом спирте рассчитывают по формулам:

$$C_a = 13,70 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649} \text{ [мг/л]}$$

$$C_b = 25,80 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665} \text{ [мг/л]}$$

$$C_{a+b} = 6,10 \cdot D_{665} + 20,04 \cdot D_{649} = 25,1 \cdot D_{654} \text{ [мг/л]}$$

3. Концентрация пигментов в этиловом эфире рассчитывают по формулам:

$$C_a = 9,93 \cdot D_{660} - 0,78 \cdot D_{642,5} \text{ [мг/л]}$$

$$C_b = 17,60 \cdot D_{642,5} - 2,81 \cdot D_{660} \text{ [мг/л]}$$

$$C_{a+b} = 7,12 \cdot D_{660} + 16,80 \cdot D_{642,5} \text{ [мг/л]}$$

4. Каротиноиды определяют после разделения пигментов методом хроматографии на бумаге или на колонке.

Для определения каротиноидов в суммарной вытяжке пигментов используют формулу Ветштейна:

$$C_{кар} = 4,695 \cdot D_{440,5} - 0,268 \cdot (C_a + C_b) \text{ [мг/л]}$$

5. Установив концентрацию пигмента в вытяжке, определяют по содержанию в исследуемом материале с учетом объема вытяжки и массы пробы по формуле:

$$A = \frac{C \cdot V}{P \cdot 1000}$$

где C – концентрация пигмента в мг/л;

V – объем вытяжки пигментов в мл;

P – навеска растительного сырья в г.

*Приготовление эфирного экстракта.* При работе с пигментами часто используют не ацетоновый, а эфирный экстракт пигментов. Для этого пигменты из ацетона переводят в этиловый эфир.

Из ацетонового экстракта берут 25 мл и переносят в делительную воронку. Добавляют 25 мл этилового эфира и около 1 мл воды (по каплям). Смесь встряхивают. После расслоения нижний водно-ацетоновый слой сливают. Эфирный раствор 5 раз промывают дистиллированной водой. После промывания эфирный раствор фильтруют через воронку, в которую добавляют немного безводного сернокислого натрия.

**Задание:** определите содержание пигментов в предложенном образце растительного сырья. Рассчитайте количество хлорофиллов а и б, каротиноидов. Сделайте заключение о доброкачественности сырья в соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

## 2.18. Лабораторная работа 17. Определение каротина

**Цель работы:** определение содержания каротина в спиртовых экстрактах (растворах, препаратах).

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** спектрофотометр КФК-3, мерная колба объемом 50 мл, мешалка, этиловый спирт абсолютный, стандартный раствор дихромата калия,

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Около 0,05 г препарата (точная навеска) помещают в мерную колбу на 50 мл, прибавляют 30 – 40 мл абсолютного спирта, встряхивают в течение 10 мин, затем доводят до метки и фильтруем. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотокориметре при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца. В качестве раствора сравнения используют тот же растворитель. Содержание суммы каротиноидов X (в пересчете на β-каротин), в мг%, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot 0,00208 \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot D_0} = \frac{D_1 \cdot 10,4}{m \cdot D_0}$$

где D<sub>1</sub> – плотность испытуемого раствора, нм;

$D_0$  – плотность стандартного образца, нм;  
0,00208 – количество  $\beta$ -каротина в мг раствора, соответствующее по окраске стандартного образца дихромата калия;

50 – разведение, мл;

m – навеска, г

Содержание суммы каротиноидов в препарате (в пересчете на  $\beta$ -каротин) должно быть не менее 180 мг%.

Стандартный раствор: 0,3600 г (точная навеска) дихромата калия растворяют в воде в мерной колбе на 1 л и доводят водой до метки.

Раствору соответствует раствору, содержащему 0,00208 мг  $\beta$ -каротина в 1 мл. Срок хранения – 1 месяц.

**Задание:** определите содержание каротина в предложенном образце препарата. Сравните содержание каротина в исходном сырье и в исследуемом препарате.

### **Контрольные вопросы:**

1. В чем отличие веществ первичного и вторичного метаболизма?
2. Какие вещества относятся к первичным метаболитам? Пути биосинтеза первичных метаболитов в растениях?
3. Какие вещества относятся к вторичным метаболитам? Пути биосинтеза вторичных метаболитов в растениях?
4. Какие химические и физико-химические методы анализа используют при изучении химического состава биологически активных веществ?
5. Чем обусловлено разделение в химическом анализе на качественный и количественный?
6. В чем заключается сущность хроматографических методов при анализе растительного сырья?
7. При анализе каких биологически активных веществ используются хроматографические методы анализа?
7. В чем заключается сущность фотометрических методов при анализе растительного сырья?
8. При анализе каких биологически активных веществ используются фотометрические методы анализа?
9. При анализе каких веществ применяются биологические методы анализа?
10. В чем заключается биохимический метод анализа?
11. Какие органические кислоты встречаются в растениях? Какую биологическую активность они проявляют?
12. С помощью каких методов определяют содержание органических кислот в растениях?
13. В чем заключается биологическая активность растительных фенольных соединений?
14. Из каких классов состоят фенольные соединения растительного сырья?
15. Как проводят качественный анализ на наличие фенольных соединений в растительном сырье?
16. В чем заключается количественный анализ фенольных соединений растительного сырья?
17. Перечислите показатели качества лекарственного сырья, содержащего фенольные соединения?
18. В чем заключается биологическая активность гликозидов?
19. Как проводят определение наличия гликозидов в растениях?
20. Как можно определить количественное содержание гликозидов в листьях брусники?
21. Какие свойства придают растительному сырью дубильные вещества?
22. Как применяются растения, содержащие дубильные вещества в медицине?
23. Каким образом определяют наличие дубильных веществ в растениях?
24. В чем заключается метод количественного анализа дубильных веществ в растениях?
25. Укажите важнейшие структурные компоненты алкалоидов. В чем заключается их биологическая активность?
26. Каким образом определяют наличие алкалоидов в растениях?

27. В чем заключается метод количественного анализа алкалоидов в растениях?
28. Какую биологическую роль выполняют пигменты в растениях?
29. Укажите растворители, которые используют при определении пигментов в растениях.
30. В чем заключается метод количественного определения пигментов в растениях?

**Творческие задачи для самостоятельной работы:**

**Задача 1.** Польза тысячелистника обыкновенного



**Научно-популярная информация:**

Яркий запах тысячелистника свидетельствует о том, что в составе растения содержатся большие запасы эфирных масел. Преимущественно это цинеол и азулен, которые сконцентрированы в цветках. Кроме того, тысячелистник богат дубильными веществами, флавоноидами, витаминами С, К, А.

Он содержит органические кислоты и минералы: кобальт, молибден, медь, железо, сера, марганец.

**Задание:** напишите формулу цветка тысячелистника обыкновенного, приведите область применения тысячелистника в фармацевтической промышленности. К какому классу терпеноидов относятся цинеол и азулен? Напишите их структурные формулы.

**Задача 2.** Факты и интересные данные из истории.



**Научно-популярная информация:**

В Бельгии василек синий являлся эмблемой свободы. Эти цветы очень любил русский баснописец Иван Андреевич Крылов и в последнем завещании просил положить ему в гроб васильки. У немцев он пользуется популярностью и любовью. Василек был любимым цветком королевы Луизы и ее сына императора Вильгельма I.

**Задание:** В изображении герба какого государства нарисованы васильки? Опишите химический состав биологически активных веществ василька синего.

**Задача 3.** Ромашка – символ «чистого дыхания»



**Научно-популярная информация:**

Египтяне использовали её в качестве жаропонижающего средства, жрецы Древнего Египта уподобляли ромашку Богу солнца – Ра. А в некоторых частях Германии и Скандинавии её наделяли священными чертами и считали подарком Бога Одина. День «Белой Ромашки» впервые прошёл в нашей стране 20 апреля 1911 года.

**Задание:** в пропаганде против какого заболевания используют изображение ромашки, которая символизирует «чистое дыхание»? Опишите действующее вещество ромашки, приведите структурную формулу.

#### **Задача 4.** Пектин в плодах черемухи обыкновенной



##### **Научная информация:**

В ягодах содержится большое количество дубильных веществ, благодаря которым они положительно влияют на пищеварительную систему и нормализуют её работу. Пектин, входящий в состав плодов черемухи, стимулирует кишечник, активизирует его гладкую мускулатуру, нормализует микрофлору, останавливает рост патогенных бактерий.

**Задание:** напишите структурную формулу пектина, какими методами можно определить содержание пектина в плодах? В чем заключается способность пектина выводить из организма шлаки, тяжелые металлы и токсины?

#### **Задача 5.** Уникальные свойства алое вера



##### **Научно-популярная информация:**

Алоэ вера (Aloe Vera) – по внешнему виду напоминает разновидность кактуса, но в действительности принадлежит к семейству Асфodelиевые (Asphodelaceae) ранее (Liliaceae). Это многолетнее лекарственное растение, обитающее на Аравийском полуострове, острове Барбадос и Кюрасао.

**Задание:** чем обусловлено широкое применение алое вера в составе косметических средств? Приведите структурные формулы действующих веществ, к каким классам биологически активных веществ они относятся?

#### **Задача 6.** Бадан толстолистный – источник фенольных соединений



##### **Научная информация:**

Бадан толстолистный или монгольский чай содержит фитонциды, следы алкалоидов, полиоксистероиды. Корневища бадана содержат полифенолы, дубильные вещества, эллаговую и галловую кислоты, флобафены, арбутин, изокумарин, бергенин, смолистые вещества, эфирные масла.

**Задание:** опишите применение листьев и корней бадана в качестве лекарственного сырья. Наличием каких дубильных веществ отличается бадан? Как изменяется содержание дубильных веществ в зависимости от возраста растения?

#### **Задача 7.** Картофельная гниль

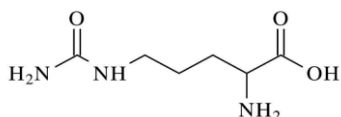


### **Научная информация:**

Оказывается, в клубнях картофеля, пораженного картофельной гнилью, уровень хлорогеновой кислоты повышается в несколько раз. Причем последняя локализуется именно на границе между здоровой и пораженной тканью. Это легко наблюдать при облучении срезов картофельных клубней ультрафиолетовыми лучами.

**Задание:** при какой длине волны ультрафиолетовых лучей мы сможем обнаружить хлорогеновую кислоту? Какую биологическую активность проявляет хлорогеновая кислота? Напишите ее структурную формулу, к какому классу соединений она относится?

### **Задача 8. Цитруллин**



### **Научная информация:**

Среди уреидов особенно интересна уреидоаминокислота – цитруллин. Он впервые был обнаружен в арбузе. Но оказывается, что он присутствует и в огурцах. Доказать, что цветную реакцию с диметилглиоксимом дает цитруллин, а не мочевины, достаточно просто. Для этого в огуречную вытяжку надо добавить щепотку соевой муки (содержит уреазу, фермент, разлагающий мочевины) и выдержать такую пробу 30-60 минут. Если в пробе имеется мочевины, окраска с диметилглиоксимом не развивается, если цитруллин – пурпурное окрашивание сохраняется.

**Задача:** можно ли обнаружить цитруллин в крови и тканях животных? Какую роль он выполняет в орнитиновом цикле и в биосинтезе мочевины? Фармакологи предполагают, что препараты цитруллина–малеата обладают стимулирующим действием на спортсменов. Какой препарат разработан на основе цитруллина?

### **Задача 9. Тимьян ползучий – символ «солнца»**



### **Научная информация:**

Тимьян (чабрец) в переводе с греческого означает «храбрость». Греческие атлеты намазывались эфирными маслами чабреца перед началом олимпийских игр. Это растение посвящено солнцу и ассоциировалось с зодиакальным знаком Льва. Чабрец сжигали на алтарях, и по направлению дыма жрецы толковали, принята ли жертва. В христианской традиции чабрец посвящен богородице, им украшали алтарь в храме.

**Задание:** чем обусловлено широкое применение чабреца? Какие вещества в составе чабреца являются действующими? К какому классу соединений они относятся?

### **Задача 10. Валерьяна лекарственная**



### **Научная информация:**

В корневищах и корнях растения содержатся эфирные масла, изовалериановая кислота, изовалерианаты (борнеол, миртенол), терпены (пинен, камфен, лимонен, фенхен, фелландрен, терпинеол,) сесквитерпены (кариофиллен, селинен, кадинен, аркуркумен, бисаболен), свободные валереновая и валериановая кислоты, валепотриаты, гликозиды, дубильные и слизистые вещества, сапонины, органические кислоты, жирные кислоты, свободные амины, алкалоиды (хатинин, валерин).

**Задание:** в составе валерьяны обнаружены многие органические кислоты: валереновая, валериановая, изовалериановая кислота, уксусная, яблочная, муравьиная стеариновая, пальмитиновая. Приведите структурные формулы кислот. К каким классам биологически активных веществ они относятся?

### **Задача 11. Женьшень обыкновенный**



### **Научно-популярная информация:**

В китайском языке слово «женьшень» говорит о сходстве корня этого растения с фигурой человека (по-китайски: жень – человек, шень – корень). А в европейской культуре подобным растением была мандрагора.

В поисках целебного корня женьшень сборщики находились в тайге с середины августа до заморозков. Все они верили, что женьшень дается

только чистым людям. Найдя женьшень, сборщик почтительно становился на колени и ласково заговаривал растение молитвами и заклинаниями: «Не уходи от меня, женьшень! Я пришел сюда с открытым сердцем и добрыми мыслями. Дай мне прикоснуться к тебе чистыми руками, не запятнанными ничем худым. Пусть свидетельствует небо, что жил я честно, ни разу не совершив греха. Моя любовь к ближнему не знает предела».

**Задание:** какие биологически активные вещества входят в состав женьшеня. Приведите структурные формулы этих веществ. Для лечения каких заболеваний используется женьшень? Есть ли подобные растения в Туве? Как называется это растение и в каких местностях он произрастает?

### Глава 3. Витамины

Витамины представляют собой группу низкомолекулярных органических соединений разнообразного химического строения, поэтому с точки зрения химического строения им нельзя дать общего определения. Физические свойства веществ, относящихся к витаминам, столь же разнообразны, как и их химическая природа, физиологическое действие витаминов на животных и растительные ткани тоже весьма различно, и отдельные витамины в этом отношении совершенно не похожи друг на друга.

Витамины принято подразделять на две группы: **водорастворимые** и **жирорастворимые**, суточная потребность человека в витаминах представлена в таблице 5.

Таблица 5

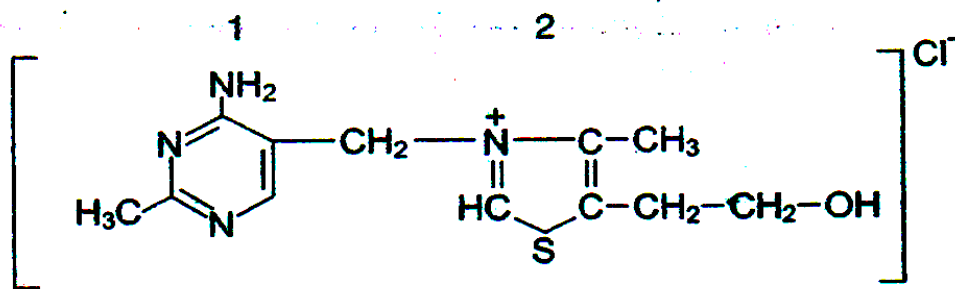
#### Суточная потребность человека в важнейших витаминах

| буквы                  | химическое                                                                  | физиологическое        | Суточная потребность, мг |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Жирорастворимые</b> |                                                                             |                        |                          |
| A                      | Ретинол                                                                     | Антиксерофтальмический | 2,5                      |
| D                      | Кальциферол                                                                 | Антирахитический       | 0,0025                   |
| E                      | Токоферол                                                                   | Антистерильный         | 15,0                     |
| K                      | Филлохинон                                                                  | Антигеморрагический    | 0,25                     |
|                        | Комплекс ненасыщенных жирных кислот, (линолевая, линоленовая, арахидиновая) |                        | 1000                     |
| F                      |                                                                             |                        |                          |
| Q                      | Убихинон                                                                    |                        |                          |
| <b>Водорастворимые</b> |                                                                             |                        |                          |
| B <sub>1</sub>         | Тиамин                                                                      | Антиневритный          | 2,0                      |
| B <sub>2</sub>         | Рибофлавин                                                                  | Витамин роста          | 2,0                      |
| B <sub>3</sub>         | Никотиновая кислота и никотинамид                                           | Антидерматический      | 12,0                     |
| B <sub>6</sub>         | Пиридоксин                                                                  | Антидерматический      | 2,0                      |
| B <sub>12</sub>        | Цианкобаламин                                                               | Антианемический        | 0,003                    |
| B <sub>15</sub>        | Глюконодиметиламиноацетат                                                   | Антианоксический       | 2,0                      |
| B <sub>c</sub>         | Птероилглутаминовая кислота                                                 | Фолиевая кислота       | 0,2                      |
| PP(B <sub>5</sub> )    | Пантотеновая кислот                                                         | Антипелларгический     | 25,0                     |
| B <sub>7</sub> (H)     | Биотин                                                                      | Антисеборейный         | 0,15                     |
| P                      | Рутин, биофлавоноид                                                         | Капилляроукрепляющий   | 50,0                     |
| C                      | Аскорбиновая кислота                                                        | Антицинготный          | 75,0                     |
| U                      | S-метилметионин                                                             | Противоязвенный        |                          |

К **водорастворимым** витаминам относят: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, PP (B<sub>5</sub>), B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>15</sub>, B<sub>c</sub>, B<sub>7</sub>, C, H, P, U. К **жирорастворимым** витаминам относят: A, D, E, K, Q, F.

**Водорастворимые витамины.** Большинство водорастворимых витаминов, поступающих с пищей или синтезируемых кишечными бактериями, проявляют активность после образования соответствующих коферментов в ходе метаболизма.

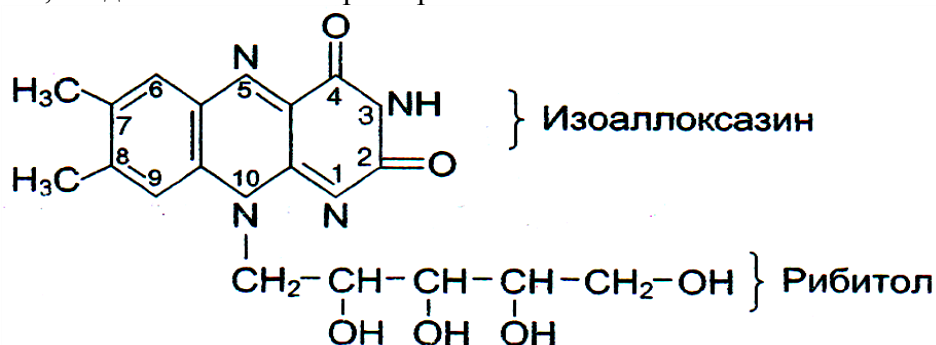
**Витамин B<sub>1</sub> (тиамин)** занимает особое место в истории – это первый кристаллический витамин, полученный в лаборатории. По химическому строению тиамин представляет собой сложное соединение, включающее пиримидиновое и тиазольное кольца:



1 - пиримидиновое кольцо, 2 – тиазоловое кольцо

В организмах животных витамин В<sub>1</sub> содержится преимущественно в виде дифосфорного эфира тиамин (ТДФ), он образуется в печени, почках, мозге, сердечной мышце путем фосфорилирования тиамин при участии тиаминкиназы и аденозинтрифосфата (АТФ).

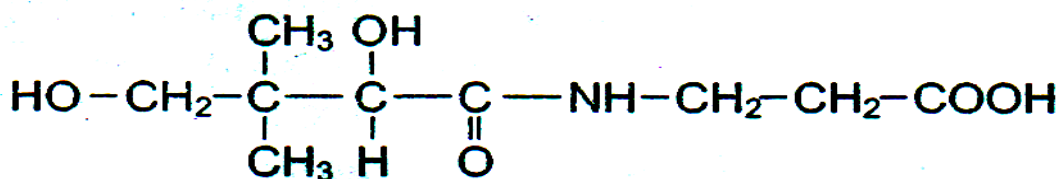
**Витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин).** В основе структуры витамина В<sub>2</sub> лежит структура изоаллоксазина, соединенного со спиртом рибитолом:



**Витамин В<sub>2</sub>**

В слизистой оболочке кишечника человека после всасывания витамина происходит образование коферментов флавиномононуклеотида (ФМН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД). Коферменты ФАД и ФМН входят в состав флавиновых ферментов, принимающих участие в окислительно-восстановительных реакциях.

**Витамин В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота).** Этот витамин состоит из остатков D-2,4-дигидрокси-3,3-диметилмасляной кислоты и β-аланина, соединенных между собой амидной связью:

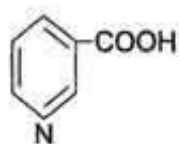


**2,4-Дигидрокси-3,3-диметил-  
масляная кислота**

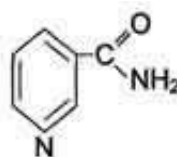
**β-Аланин**

Она синтезируется растениями и микроорганизмами, содержится во многих продуктах животного и растительного происхождения (яйцо, печень, мясо, рыба, молоко, дрожжи, картофель, морковь, пшеница, яблоки). В кишечнике человека пантотеновая кислота в небольших количествах продуцируется кишечной палочкой. Пантотеновая кислота – универсальный витамин, в ней или ее производных нуждаются человек, животные, растения и микроорганизмы.

**Витамин РР (В<sub>5</sub>) –никотиновая кислота, никотинамид.** Никотиновая кислота и её амид (никотинамид, ниацин) известны очень давно:



Никотиновая кислота

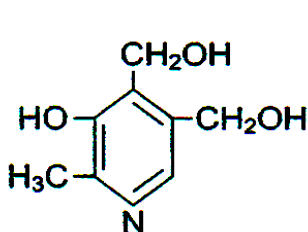


Никотинамид

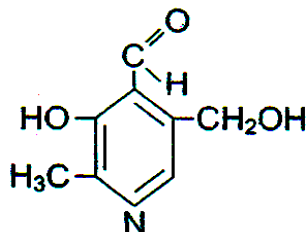
#### Витамин РР

Витамин РР широко распространён в растительных отрубях, дрожжах, в печени и почках крупного рогатого скота и свиней. Он может образовываться из триптофана (из 60 молекул триптофана может образоваться 1 молекула никотинамида), что снижает потребность в витамине РР при увеличении количества триптофана в пище. Никотиновая кислота в организме входит в состав никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и никотинамиддинуклеотидфосфата (НАДФ), выполняющих функции коферментов различных дегидрогеназ.

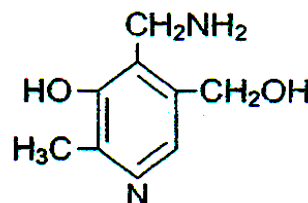
**Витамин В<sub>6</sub> (пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин)** рассматривают как сочетание трех индивидуальных веществ: пиридоксола, пиридоксала и пиридоксамина.



Пиридоксол  
(пиридоксин)

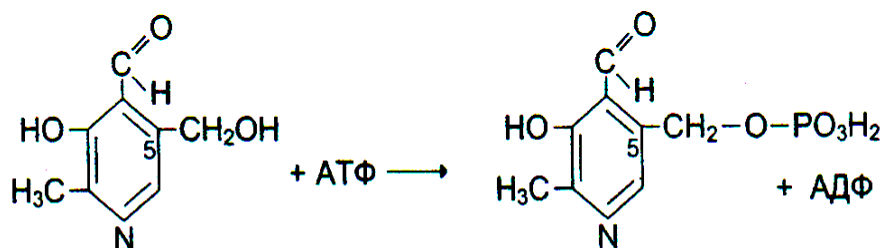


Пиридоксаль



Пиридоксамин

Каждое из них обладает свойствами витамина, ибо в организме способно перейти в пиридоксальфосфат, который, собственно, и участвует в химических реакциях, связанных с деятельностью данного витамина. Все три формы витамина В<sub>6</sub> используются в организме для синтеза коферментов: пиридоксальфосфата и пиридоксаминфосфата. Коферменты образуются путем фосфорилирования по гидроксиметильной группе в пятом положении пиримидинового кольца при участии фермента пиридоксалькиназы и АТФ как источника фосфата.



Пиридоксаль  
(витамин В<sub>6</sub>)

Пиридоксальфосфат  
(кофермент)

**Витамин В<sub>12</sub> (кобаламин)** это единственный витамин, синтезируемый почти исключительно микроорганизмами: бактериями, актиномицетами и сине-зелеными водорослями. Ни животные, ни растения не способны синтезировать витамин В<sub>12</sub>. Из животных тканей наиболее богаты витамином В<sub>12</sub> печень и почки.

Молекула витамина В<sub>12</sub> состоит из так называемой планарной группы, которая содержит восстановленные пиррольные кольца с атомом Со в центре, и расположенной перпендикулярно к ней нуклеотидной группы, имеющий диметилбензимидазол в качестве основания и α-D-рибофуранозу в качестве углевода (рис. 4):

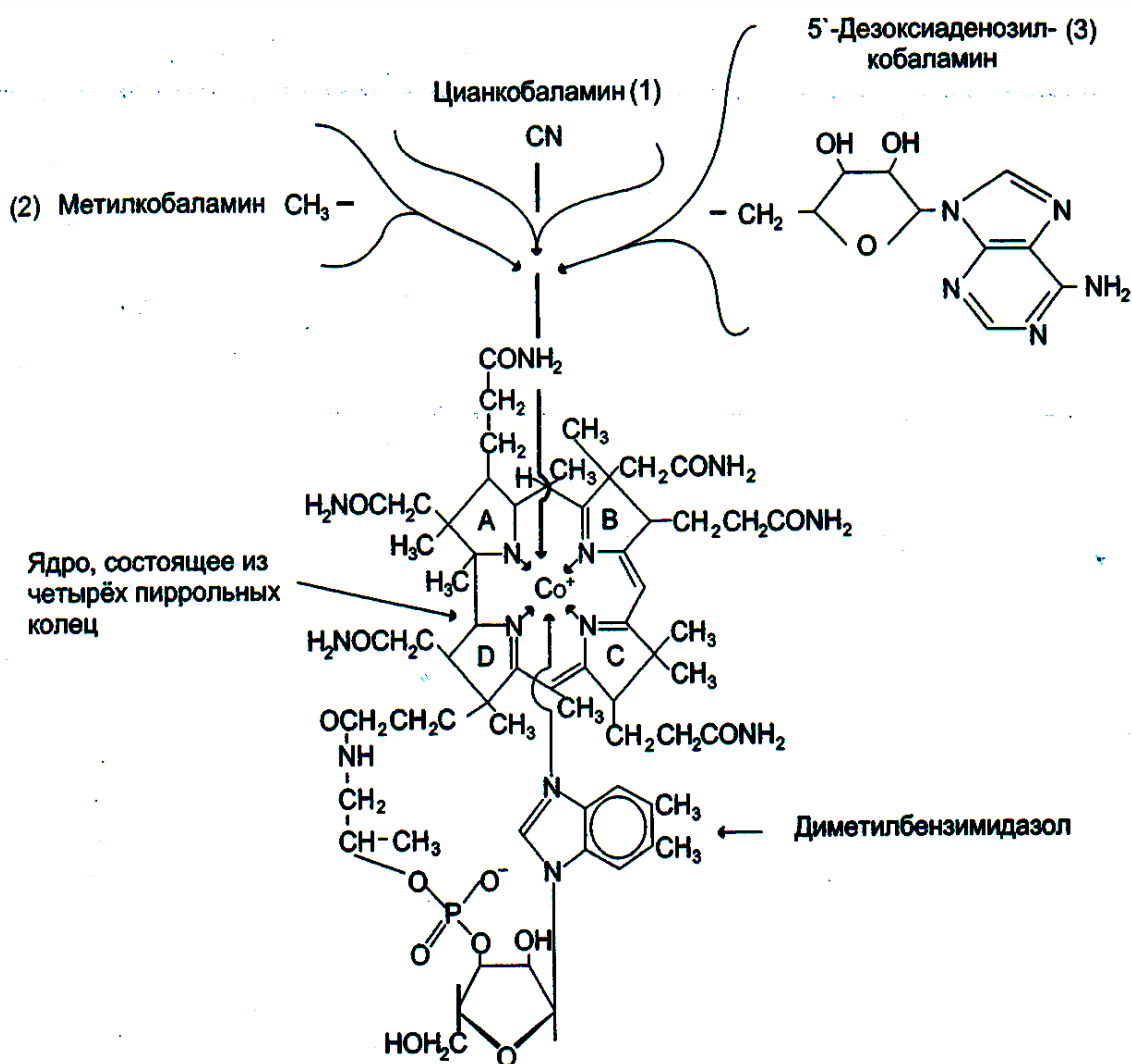
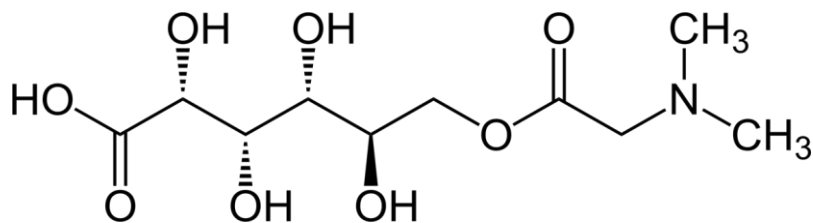


Рис. 4. Структура витамина B<sub>12</sub> (1) и его коферментные формы:  
2 – метилкобаламин и 3 – 5-дезоксиаденозилкобаламин

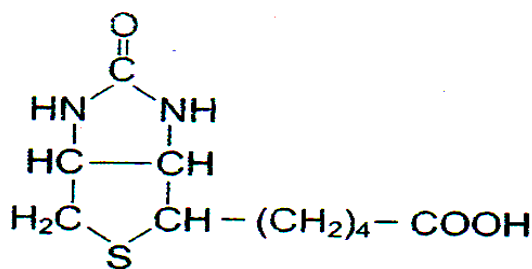
Кобаламин служит источником образования двух коферментов: метилкобаламина в цитоплазме и дезоксиаденозилкобаламина в митохондриях.

**Витамин B<sub>15</sub> (пангамовая кислота)** очень широко распространён в природе и всегда представлен в семенах растений. Химический состав и строение пангамовой кислоты:

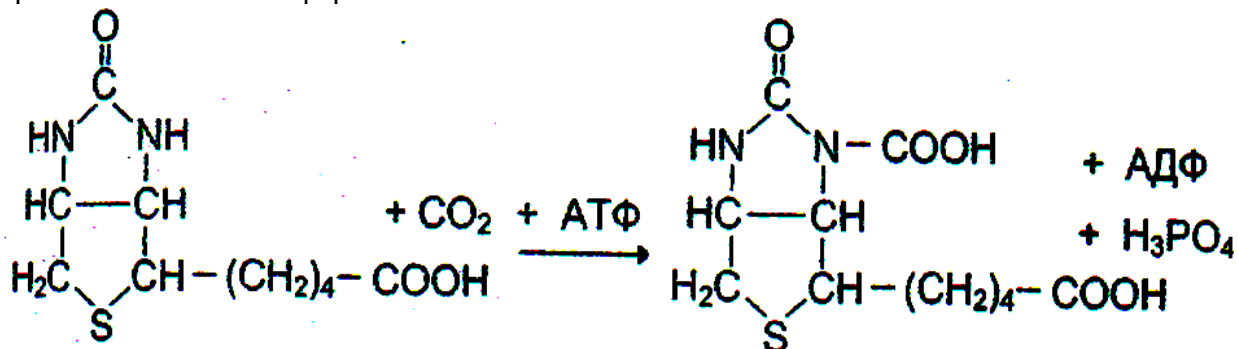


Пангамовая кислота обеспечивает нормальный ход биосинтеза холина, метионина, креатина и креатинфосфата. Так как последний активно разрушается при функциональной перегрузке сердца, пангамат кальция применяют для лечения предынфарктного состояний.

**Витамин H (биотин)** в основе строения лежит тиофеновое кольцо, к которому присоединена молекула мочевины, а боковая цепь представлена валерьяновой кислотой:



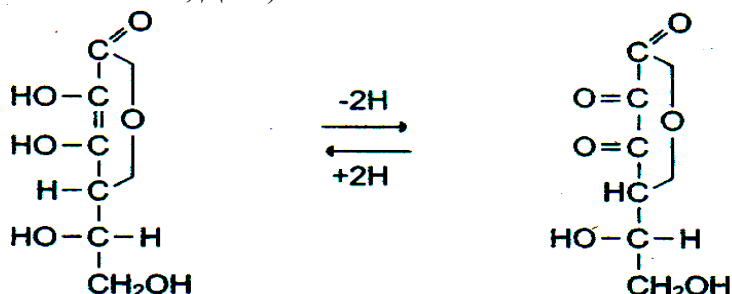
Биотин выполняет коферментную функцию в составе карбоксилаз, участвует в образовании активной формы  $\text{CO}_2$ :



В организме биотин используется в образовании малонил-КоА из ацетил-КоА, в синтезе пуринового кольца, а также в реакции карбоксилирования пирувата с образованием оксалоацетата.

Наиболее богаты этим витамином печень, почки, молоко, желток яйца. В обычных условиях человек получает достаточное количество биотина в результате бактериального синтеза в кишечнике.

**Витамин С (аскорбиновая кислота)** является лактон кислоты, близкой по структуре к глюкозе. Существует в двух формах – восстановленной (АК) и окисленной (дегидроаскорбиновой кислоты, ДАК):



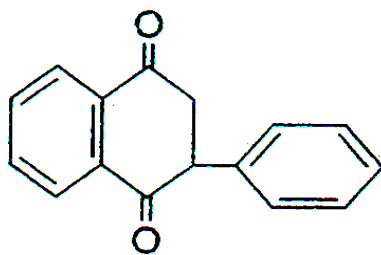
#### **Аскорбиновая кислота (АК)      Дегидроаскорбиновая кислота (ДАК)**

Обе эти формы аскорбиновой кислоты быстро и обратимо переходят друг в друга и в качестве коферментов участвуют в окислительно-восстановительных реакциях.

Аскорбиновая кислота может окисляться кислородом воздуха, пероксидом и другими окислителями. ДАК легко восстанавливается цистеином, глутатионом, сероводородом. В слабощелочной среде происходит разрушение лактонового кольца и потеря биологической активности. При кулинарной обработке пищи в присутствии окислителей часть витамина С разрушается.

В кишечнике аскорбиновая кислота восстанавливает  $\text{Fe}^{3+}$  в  $\text{Fe}^{2+}$ , способствуя его всасыванию, ускоряет освобождение железа из ферритина, способствует превращению фолата в коферментные формы. Аскорбиновую кислоту относят к природным антиоксидантам. Недостаточность аскорбиновой кислоты приводит к заболеванию, называемому цингой (скорбут).

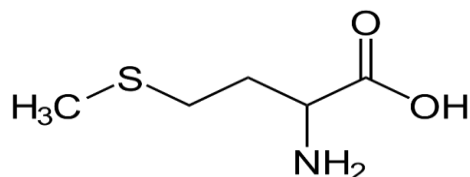
**Витамин Р (рутин, рибофлавоиды)** объединяет семейство биофлавоноидов (катехины, флавононы, флавоны).



Флавор

Это очень разнообразная группа растительных полифенольных соединений, влияющих на проницаемость сосудов сходным образом с витамином С. Наиболее богаты витамином Р лимоны, гречиха, черноплодная рябина, чёрная смородина, листья чая, плоды шиповника.

**Витамин U** является S-метилметионином:



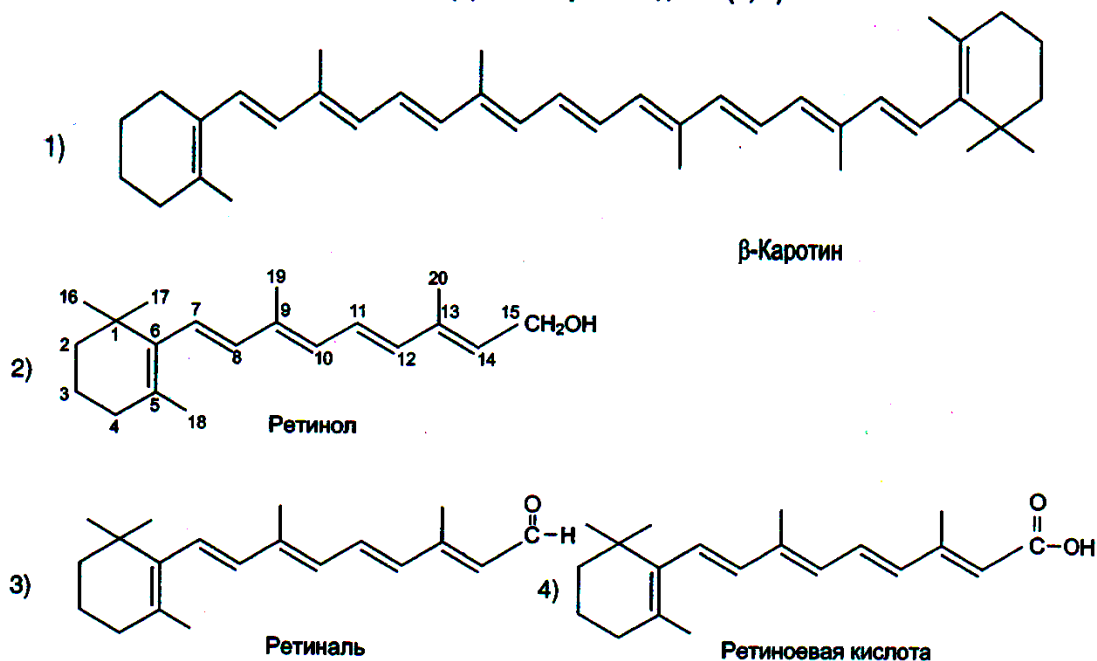
Механизм лечебного действия хлорида метилметионинсульфония объясняется тем, что он является макроэргическим соединением и активным поставщиком метильных групп для химических процессов, связанных с регенерацией слизистых оболочек органов пищеварения.

Источниками витамина U для человека являются спаржа, капуста, томаты, сельдерей и зеленый чай.

**Жирорастворимые витамины А, Д, Е, К.**

**Витамины группы А** являются производными каротина. Они нерастворимы в воде, но растворяются в различных органических растворителях и жирах. Отсутствие в пище витаминов группы А отражается на росте, понижении стойкости к заболеваниям и ослаблении зрения. Витамины группы А образуются в животных тканях, в растениях отсутствуют. Однако эти витамины образуются из каротиноидов, которые широко распространены в растениях, поэтому каротин является провитамином А.

**Витамин А (ретинол)** – циклический, ненасыщенный, одноатомный спирт.



Строение провитамина А (1), витамина А (2) и его производных (3, 4)

В организме ретинол превращается в ретиналь и ретиновую кислоту, участвующие в регуляции ряда функций (в росте и дифференцировке клеток); они также составляют фотохимическую основу акта зрения. В слизистой оболочке кишечника и клетках печени содержится специфический фермент каротиндиоксигеназа, превращающий каротиноиды в активную форму витамина А.

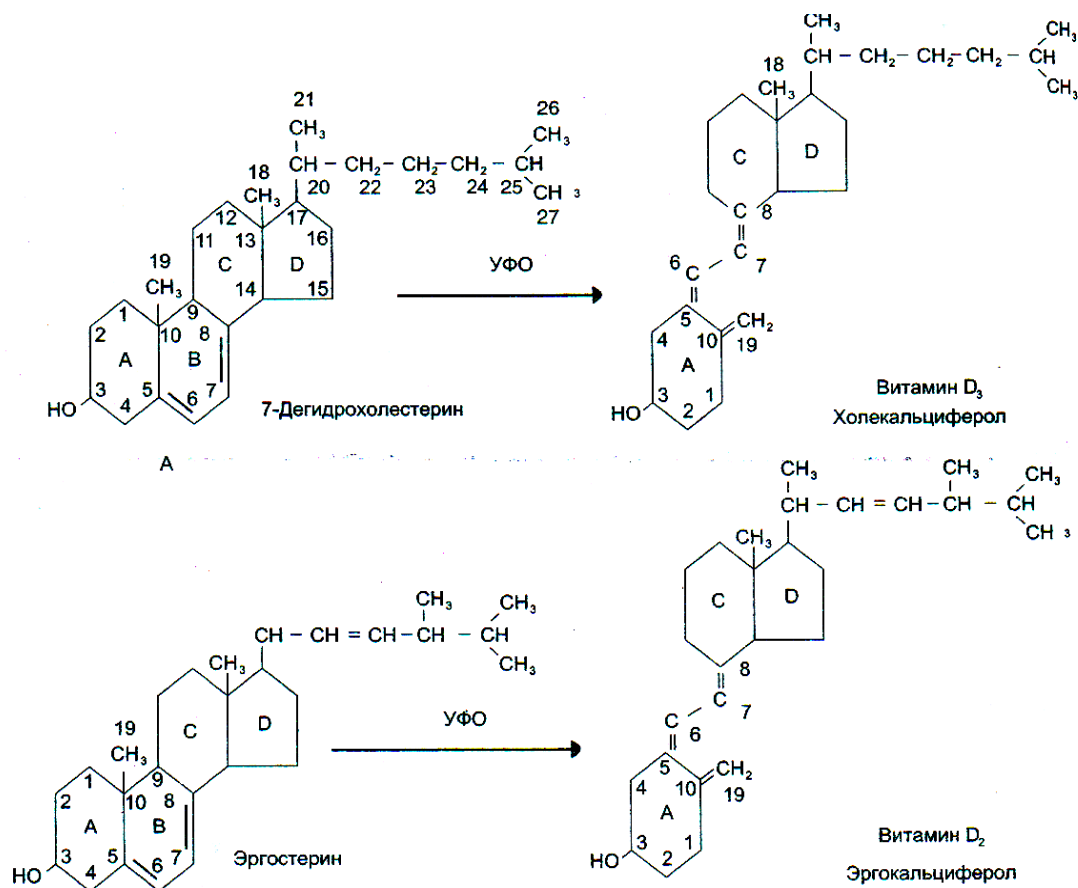
**Витамины группы D (кальциферолы)** встречаются только в животном организме. В растениях содержатся стеролы, из которых под влиянием облучения ультрафиолетовыми лучами образуются витамины группы D, поэтому эти стеролы называют провитаминами D.

Кальциферолы – группа химически родственных соединений, относящихся к производным стерина. Наиболее биологически активные витамины – D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>.

Витамин D<sub>2</sub> (эргокальциферол), производное эргостерина – растительного стероида, встречающегося в некоторых грибах, дрожжах и растительных маслах. При ультрафиолетовом облучении пищевых продуктов из эргостерина синтезируется витамин D<sub>2</sub>, используемый в лечебных целях. Витамин D<sub>3</sub> (холекальциферол), имеющийся у человека и животных, образуется в коже человека из 7-дегидрохолестерина под действием ультрафиолетовых лучей.

Витамины D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub> – белые кристаллы, жирные на ощупь, нерастворимые в воде, но хорошо растворимые в жирах и органических растворителях.

Наибольшее количество витамина D<sub>3</sub> содержится в продуктах животного происхождения: сливочном масле, желтке яиц, рыбьем жире.



В организме человека витамин D<sub>3</sub> гидроксилируется в положениях 25 и 1, превращаясь в биологически активное соединение 1,25-дигидроксихолекальциферол (кальцитриол). Кальцитриол выполняет гормональную функцию, участвуя в регуляции обмена Ca<sup>2+</sup> и фосфатов, стимулируя всасывание Ca<sup>2+</sup> в кишечнике и кальцификацию костной ткани, реабсорбцию Ca<sup>2+</sup> и фосфатов в почках. При низкой концентрации Ca<sup>2+</sup> или высокой концентрации D<sub>3</sub> он стимулирует мобилизацию Ca<sup>2+</sup> из костей.

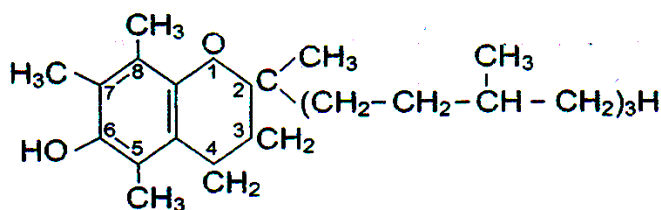
При недостатке витамина D у детей развивается заболевание «рахит», характеризующееся нарушением кальцификации растущих костей. При этом наблюдают деформацию скелета с

характерными изменениями костей (X- или o- образная форма ног, «чётки» на ребрах, деформация костей черепа, задержка прорезывания зубов).

Поступление в организм избыточного количества витамина D<sub>3</sub> может вызвать гипервитаминоз D. Это состояние характеризуется избыточным отложением солей кальция в тканях легких, почек, сердца, стенках сосудов, а также остеопорозом с частыми переломами костей.

**Витамины группы E (токоферолы).** В настоящее время известно семейство токоферолов и токотриенолов, найденных в природных источниках. Все они являются метильными производными исходного соединения токола, по строению очень близки и обозначаются буквами греческого алфавита. Наибольшую биологическую активность проявляет L-токоферол.

Токоферолы представляют собой маслянистую жидкость, хорошо растворимую в органических растворителях.



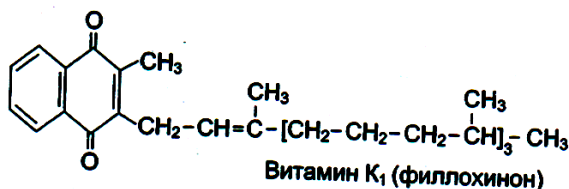
$\alpha$ -токоферол (5, 7, 8-триметилтокол)

По механизму действия токоферол является биологическим антиоксидантом. Он ингибирует свободнорадикальные реакции в клетках и таким образом препятствует развитию цепных реакций перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот в липидах биологических мембран и других молекул, например, ДНК. Токоферол повышает биологическую активность витамина A, защищая от окисления ненасыщенную боковую цепь.

Известно положительное влияние витамина E при лечении нарушения процесса оплодотворения, при повторяющихся непроизвольных абортах, некоторых форм мышечной слабости и дистрофии. Показано применение витамина E для недоношенных детей и детей, находящихся на искусственном вскармливании, так как в коровьем молоке в 10 раз меньше витамина E, чем в женском. Дефицит витамина E проявляется развитием гемолитической анемии, возможно из-за разрушения мембран эритроцитов в результате перекисного окисления липидов.

Источником витамина E для человека являются растительные масла, салат, капуста, семена злаков, сливочное масло, яичный желток.

**Витамин K (филлохинон).** Витамин K существует в нескольких формах в растениях как филлохинон K<sub>1</sub> и в клетках кишечной флоры как менахинон K<sub>2</sub>.



Витамин K<sub>1</sub> (филлохинон)



Витамин K<sub>2</sub> (менахинон)

Биологическая функция витамина K связана с его участием в процессе свёртывания крови.

Источники витамина K – растительные (капуста, шпинат, корнеплоды и фрукты) и животные (печень) продукты. Кроме того, он синтезируется микрофлорой кишечника.

Обычно авитаминоз К развивается вследствие нарушения всасывания витамина К в кишечнике, а не в результате его отсутствия в пище.

Таким образом, основными поставщиками витаминов для человека и животных являются растения. Отсутствие или недостаток в пище витаминов приводит к глубоким нарушениям обмена веществ и, в конечном счете, к заболеваниям (авитаминозы, гипоавитаминозы). В зависимости от недостатка того или иного витамина возникают такие заболевания, как, например, цинга, рахит, куриная слепота, полиневрит, пеллагра.

### 3.1. Лабораторная работа 18.

#### Качественные реакции на водорастворимые витамины

**Цель работы:** проведение качественного анализа на наличие витаминов в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

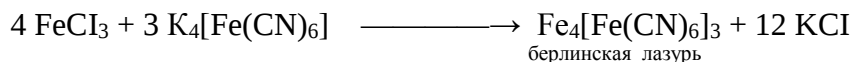
**Оборудование и реактивы:** конические колбы объемом 250 мл, установка для титрования, 10 % раствор гидроксида натрия, 5% раствор гексацианоферрата калия, 10 % раствор соляной кислоты, 1 % раствор хлорида железа (III), 0,1 % раствора йода в калий йодиде, крахмальный клейстер, 5 % раствор йода.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

**Качественные реакции на водорастворимые витамины:**

1. Качественные реакции на аскорбиновую кислоту.

Аскорбиновая кислота в щелочной среде может восстанавливать калий гексациано(III)феррат (красную кровяную соль –  $K_3[Fe(CN)_6]$ ) до калий гексациано(II)феррата (желтой кровяной соли –  $K_4[Fe(CN)_6]$ ). Последний можно открыть, прибавляя раствор хлорида железа (III). В кислой среде образуется берлинская лазурь, которая выпадает в виде темно-синего осадка:



К 5 каплям 1 % раствора витамина С прибавляют 1 каплю 10 % раствора гидроксида натрия и 1 каплю 5 % раствора калий гексацианоферрата (III), перемешивают и прибавляют 3 капли 10 % раствора соляной кислоты и 1 каплю 1 % раствора хлорида железа (III). Выпадает осадок берлинской лазури.

2. Аскорбиновая кислота восстанавливает молекулярный йод до бесцветной йодоводородной кислоты.

В две пробирки наливают по 10 капель дистиллированной воды, прибавляют по 1-2 капли 0,1 % раствора йода в калий йодиде. В первую пробирку прибавляют 10 капель экстракта шиповника, во вторую – такое же количество дистиллированной воды. В первой пробирке раствор йода обесцвечивается.

3. В пробирку наливают 2 мл сока и 10 мл воды. Затем в пробирку добавляют немного крахмального клейстера и по каплям 5 %-ный раствор йода до появления устойчивого синего окрашивания, не исчезающего 10-15 мин. Молекулы аскорбиновой кислоты легко окисляются йодом. Когда реакция окисления завершится, следующая капля йода окрасит крахмал в синий цвет.

**Задание:** с помощью качественного анализа в предложенном образце растительного сырья установите наличие витамина С. Сделайте вывод о возможности использования исследуемого образца в качестве витаминного сырья.

### 3.2. Лабораторная работа 19. Определение аскорбиновой кислоты

**Цель работы:** определение содержания аскорбиновой кислоты в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** конические колбы объемом 250 мл, установка для титрования, 2 % раствор соляной кислотой, раствор йодистого калия, 1 % раствор крахмала, 0,001 н. раствор иодата калия.

### **Методические рекомендации для выполнения работы:**

Навеску 5 г сырья смешивают с 3–5 частями стеклянного порошка. Затем навеску с порошком стекла смачивают 2–процентной соляной кислотой в количестве 60 мл и в течение 10 минут растирают в ступке.

После растирания содержимое фильтруют через бумажный фильтр, отбирают 1 – 2 мл фильтрата. К отобранному фильтрату добавляют 1 мл 2–процентный раствор соляной кислоты и около 10 мл дистиллированной воды.

Затем добавляют 0,5 мл раствора йодистого калия. В качестве индикатора используют 1–процентный раствор крахмала. Полученную смесь титруют 0,001 н. раствором иодата калия до образования синего цвета.

Содержание витамина С определяют по формуле:

$$X = \frac{V_1 \cdot 0,088 \cdot B \cdot 100}{m \cdot V_2}$$

где  $V_1$  – объем раствора, взятого на титрование, мл;

$V_2$  – объем  $KJO_3$ , затраченного на титрование, мл;

$K$  – поправочный коэффициент;

$B$  – количество полученного раствора, мл, которое складывается из взятого раствора соляной кислоты (60 мл) и влаги анализируемого материала;

$m$  – масса навески, г;

0,088 – количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 н. раствору иодата калия.

**Задание:** определите содержание аскорбиновой кислоты в предложенном образце растительного сырья. Сделайте заключение о доброкачественности сырья в соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

### **3.3. Лабораторная работа 20. Определение тиамин**

**Цель работы:** определение содержания тиамин в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [7].

**Оборудование и реактивы:** раствор 0,1 н гидроксида натрия, бромтимоловый синий.

#### **Методические рекомендации для выполнения работы:**

Для определения тиамин (витамина  $B_1$ ) 5 г сырья тщательно растирают с 40 мл дистиллированной воды. После растирания содержимое фильтруют через бумажный фильтр и титруют 0,1 н гидроксидом натрия в присутствии индикатора бромтимолового синего до образования голубого окрашивания.

Содержание витамина  $B_1$  определяют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,033727 \cdot 100}{m}$$

где  $V$  – объем 0,1н NaOH, пошедшего на титрование, мл;

$m$  – масса навески, г;

0,033727 – количество тиамин хлорида, соответствующее 1 мл 0,1 н раствору гидроксида натрия;

100 – коэффициент пересчета на %.

**Задание:** определите содержание тиамин в предложенном образце растительного сырья. Сделайте заключение о доброкачественности сырья в соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

### **3.4. Лабораторная работа 21. Определение пиридоксин**

**Цель работы:** определение содержания пиридоксин в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** 0,1 н раствор гидроксида натрия, бромтимоловый синий, 0,1 н раствор нитрата серебра, насыщенный раствор дихромата калия.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Навеску сырья массой 0,1 г, растирают с дистиллированной водой. Помещают в мерную колбу с объемом 50 мл и доводят объем раствора до метки водой. Из него отбирают в коническую колбу 10 мл, добавляют индикатор бромтимоловый синий и титруют из микробюретки 0,1 н раствором гидроксида натрия до изменения цвета раствора.

Для контроля оттитрованную щелочью пробу дополнительно титруют из микробюретки 0,1 н раствором нитрата серебра в присутствии 2-3 капель насыщенного раствора дихромата калия до изменения цвета. Результаты первого и второго титрования должны совпасть, в крайнем случае, раствора нитрата серебра на второе титрование израсходуется на 0,05 – 0,08 мл больше.

Расчет витамина В<sub>6</sub> вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V_1 \cdot 0,0205 \cdot V_2 \cdot 100}{m \cdot V_3}$$

где V<sub>1</sub> – количество точного 0,1 н раствора NaOH, израсходованного на титрование, мл;  
0,0205- количество пиридоксина, соответствующего 1мл 0,1 н раствора NaOH, г;

V<sub>2</sub> – объем разведения, мл;

m – масса навески, г;

V<sub>3</sub> – количество раствора, взятого на титрование, мл.

**Задание:** определите содержание пиридоксина в исследуемом образце. Сделайте заключение о доброкачественности сырья в соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

### 3.5. Лабораторная работа 22. Определение никотиновой кислоты

**Цель работы:** определение содержание никотиновой кислоты в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** конические колбы объемом 250 мл, установка для титрования, 0,1 н. и 0,5 н. раствор гидроксида натрия, 10 % раствор сульфата меди, раствор соляной кислоты (1:2), сухая соль иодида калия, 0,1 н. раствор тиосульфата натрия, 1 % раствор крахмала.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Навеску 0,5 г сырья растворяют в 25 мл свежепрокипяченной горячей воде, по охлаждении нейтрализуют 0,5 н, а под конец 0,1 н раствором гидроксида натрия. Переводят в мерную колбу объемом 100 мл, прибавляют 10 мл 10–процентного раствора сульфата меди, доводят водой до метки и через 10–15 минут фильтруют.

В коническую колбу с притертой пробкой отбирают 50 мл фильтрата, 10 мл разведенной соляной кислоты (1:2), 2 г иодида калия. Колбу закрывают пробкой и оставляют в темноте на 10 минут. Выделившийся йод титруют 0,1 н раствором тиосульфата натрия. В качестве индикатора используют крахмал.

В другую коническую колбу с притертой пробкой отбирают 5 мл 10–процентного раствора сульфата меди, прибавляют 10 мл разведенной соляной кислоты (1:2), 2 г иодида калия. Колбу закрывают пробкой и оставляют в темноте на 10 минут. Выделившийся йод титруют 0,1 н раствором тиосульфата натрия, в присутствии крахмала.

Содержание витамина РР вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,02462 \cdot 100}{m}$$

где V<sub>1</sub> – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование испытуемой пробы, мл;

$V_2$  – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование контрольной пробы, мл;  
0,02462 – количество никотиновой кислоты, соответствующего 1 мл 0,1 н раствора тиосульфата натрия, г;  
100 – коэффициент пересчета в %;  
 $m$  – масса навески, г.

**Задание:** определите содержание никотиновой кислоты в исследуемом образце. Сделайте заключение о доброкачественности сырья в соответствии требованиям НТД согласно ГФ РФ [7].

### 3.6. Лабораторная работа 23.

#### Качественные реакции на жирорастворимые витамины

**Цель работы:** проведение качественного анализа на наличие жирорастворимых витаминов.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** 33 %-го хлороформный раствор треххлористой сурьмы, хлороформ, масляный концентрат витамина А, рыбий жир, серная кислота концентрированная, ледяная уксусная кислота; насыщенный раствор сульфата железа (II), концентрированная серная кислота.

Анилиновый реактив, масляный раствор витамина Д, рыбий жир, раствор трихлористой сурьмы, уксусный ангидрид, сухие дрожжи в порошке.

2 % раствор диэтилдитиокарбамата натрия в спирте; 2 % и 4 % раствор едкого натра в спирте; насыщенный раствор витамина К в спирте, 5 % раствор диэтилдитиокарбамата, 2 % раствор гидроксида натрия в этаноле.

10 % раствор едкого натра; 0,1 % раствор цистеина; 0,05 % раствор викасола, препарат с витамином Е, 96 % этиловый спирт, концентрированная азотная кислота, спиртовой раствор  $\alpha$ -токоферола, 1 % раствор хлорида железа (III).

#### Методические рекомендации для выполнения работы:

##### 1. Качественные реакции на витамин А

1. Треххлористая сурьма образует при взаимодействии с витамином А синий продукт. Эта реакция часто используется для количественного определения витамина А, так как интенсивность синего окрашивания пропорциональна содержанию витамина А в исследуемом материале. С раствором треххлористой сурьмы нужно обращаться очень осторожно, так как случае попадания на кожу он вызывает ожог.

В сухую пробирку вносят две капли масляного раствора витамина А (свежего рыбьего жира) и добавляют 2-3 капли 33 % хлороформного раствора треххлористой сурьмы; при смешивании содержимое пробирки окрашивается в синий цвет.

2. Реакция Друммонда с концентрированной серной кислотой. В сухую пробирку по стенке опускают 3 капли масляного раствора витамина А или рыбьего жира и 2 капли хлороформа. Вслед за этим сюда же осторожно опускают каплю серной кислоты. В месте соприкосновения витамина А с серной кислотой появляется фиолетовое окрашивание, переходящее в вишнево-красное.

3. Реакция с сульфатом железа (II). В пробирку к 2-3 каплям масляного раствора витамина А или рыбьего жира приливают 5-10 капель ледяной уксусной кислоты, насыщенный сульфат железа (II), 1-2 капли концентрированной серной кислоты. Появляется голубое окрашивание, постепенно переходящее в красно-розовое. Каротины дают при этой реакции зеленое окрашивание.

##### 2. Качественные реакции на витамин Д

1. Реакция с анилиновым реактивом. Берут 2 пробирки. В одну из них вносят 2 капли рыбьего жира, содержащего витамин Д<sub>3</sub>, в другую столько же капель масляного раствора витамина Д, содержащего витамин Д (получаемого обычно путем облучения эргостерола дрожжей). В каждую пробирку добавляют по 2 капли хлороформа и по 3 капли анилинового

реактива. Нагревают пробирки на горелке и отмечают появление красного окрашивания. Опыт показывает таким образом, что эту реакцию дает как витамин D<sub>2</sub>, так и витамин D<sub>3</sub>.

2. Реакция с треххлористой сурьмой. Берут 2 пробирки и вносят в первую 3 капли масляного раствора витамина D, во вторую – столько же рыбьего жира. В каждую пробирку осторожно добавляют раствор трихлористой сурьмы до появления красно-коричневого окрашивания, указывающего на присутствие витамина D. При стоянии окраска становится фиолетовой.

3. Обнаружение эргостерола в дрожжах. Провитамины D – эргостерол и 7-дегидрохолестерол близки по строению к холестеролу, поэтому они дают характерную для него реакцию с уксусным ангидридом и серной кислотой. При реакции с чистыми препаратами холестерола вначале появляется красное или фиолетовое окрашивание, а затем синее и зеленое; препараты эргостерола так же, как и препараты 7-дегидрохолестерола, не загрязненные холестеролом, дают сразу синее и зеленое окрашивание. При реакции с холестеролом, если концентрация его не очень высока, окраска появляется медленно и достигает максимума через 30 мин. 7-дегидростерол дает реакцию очень быстро. Это обстоятельство позволяет обнаружить эргостерол и 7-дегидрохолестерол даже в присутствии холестерола.

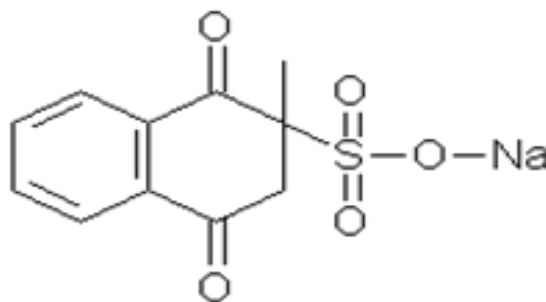
В пробирку помещают немного сухих дрожжей, добавляют 15-20 капель хлороформа и встряхивают. Полученный экстракт отделяют фильтрованием. Отфильтровав 5 капель жидкости, добавляют к ним 5 капель уксусного ангидрида и столько же серной кислоты. Отмечают появление зеленой окраски.

### **3. Качественные реакции на витамин К**

1. К 2 каплям раствора витамина К приливают 4 капли раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 2 капли спиртового раствора едкого натра, встряхивают. Постепенно возникает красное окрашивание.

2. В пробирку к 2 мл спиртового раствора витамина К прибавляют 2 мл 5 %-го раствора диэтилдитиокарбамата и 0,5 мл 2 %-го раствора гидроксида натрия в этаноле. Раствор приобретает голубое окрашивание.

3. Качественная реакция на викасол. Викасол представляет собой аналог витамина К, полученный А.В. Палладиным синтетическим путем. Основное преимущество викасола перед витамином К заключается в том, что он растворим в воде, и поэтому введение этого аналога в организм больного не связано с затруднениями, которые возникают при введении витамина К, растворимого только в жирах и органических растворителях. Викасол дает при взаимодействии с цистеином в щелочной среде желтое окрашивание.



В микрохимической пробирке смешивают 2 капли растворов викасола и цистеина. Добавляют 1 каплю раствора едкого натра и отмечают появление желтого окрашивания.

### **4. Качественные реакции на витамин Е**

1. Реакция с азотной кислотой. При взаимодействии с концентрированной азотной кислотой токоферол окисляется в соединение, имеющее хиноидную структуру и окрашенное в красный цвет.

В сухую пробирку вносят 5 капель спиртового раствора витамина Е и добавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты. Пробирку интенсивно встряхивают и наблюдают постепенное появление красного окрашивания.

2. Около 0,012 г препарата с витамином Е растворяют в 10 мл абсолютного спирта, добавляют 2 мл концентрированной азотной кислоты и нагревают в течение 15 минут на водяной бане при температуре 80 °С: появляется красно-оранжевое окрашивание.

3. Реакция с хлорным железом. При взаимодействии с хлоридом железа (III) α-токоферол окисляется до α-токоферилхинона – соединения, окрашенного в красный цвет. В сухую пробирку вносят 0,5 мл спиртового раствора α-токоферола, затем 0,5 мл 1 %-го раствора хлорида железа (III) и тщательно перемешивают содержимое пробирки. Наблюдают появление красного окрашивания.

**Задание:** определите наличие жирорастворимых витаминов в предложенном образце.

### **3.7. Лабораторная работа 24. Спектрофотометрическое определение ретинола**

**Цель работы:** определение содержания ретинола ацетата в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** спектрофотометр, исследуемый препарат, 96%-й раствор этилового спирта.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Около 0,03 г препарата растворяют в абсолютном спирте в мерной колбе на 100 мл, доводят объем таким же спиртом до метки.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волн 326 нм. Содержание ретинола ацетата X, %, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 1550}$$

где D – оптическая плотность раствора препарата при длине волны 326 нм;

100, 100 – разведение, мл;

m – навеска препарата, г;

1550 – удельный показатель поглощения E при длине волны 326 нм для 100 % ретинола ацетата в абсолютном спирте.

Содержание C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> в препарате должно быть не менее 97,01 г, 100 % ретинола ацетата соответствует 2907000 МЕ витамина А.

**Задание:** определите содержание ретинола ацетата в предложенном образце.

### **3.8. Лабораторная работа 25. Колориметрическое определение ретинола**

**Цель работы:** определение содержания ретинола ацетата в растительном сырье.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** фотоколориметр, раствор рыбьего жира в хлороформе (1:10); уксусный ангидрид; 33 %-й раствор треххлористой сурьмы.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Метод основан на колориметрическом определении интенсивности окраски, которая образуется при реакции витамина А с треххлористой сурьмой в присутствии уксусного ангидрида.

В пробирку к 0,4 мл хлоромоформного раствора рыбьего жира прибавляют 1-2 капли уксусного ангидрида (для предупреждения появления мути) и 4 мл 33 %-го раствора треххлористой сурьмы в хлороформе. Спустя 10 мин раствор фотометрируют при 620 нм (красный светофильтр) против раствора треххлористой сурьмы.

Концентрацию витамина А в рыбьем жире находят по калибровочному графику, где каждому значению найденной экстинкции соответствует определенное содержание витамина А в 0,4 мл раствора.

Построение калибровочного графика производится с помощью стандартного концентрата витамина А в рыбьем жире. Если содержание витамина А в 1 мл концентрата составляет 500 ед. (интернациональные единицы), то для приготовления первоначального раствора берут 10 мл рыбьего жира и растворяют в 50 мл хлороформа. Из 1 мл этого раствора

готовят разведения таким образом, чтобы в 0,4 мл этого раствора содержалось от 20 до 80 ед. витамина А. Стандартные растворы обрабатывают треххлористой сурьмой и определяют оптическую плотность. Полученные данные используют для построения калибровочного графика.

Содержание витамина А в 1 мл рыбьего жира С, в ед., определяют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot a}{V_1}$$

где, а – количество витамина А в 1 мл исследуемого раствора (для этого количество витамина А, найденное по графику в 0,4 мл раствора, разделить на 0,4, в ед.);

V – общий объем исследуемого хлоромоформного раствора рыбьего жира, мл;

V<sub>1</sub> – объем рыбьего жира, взятое на анализ, мл.

**Задание:** определите содержание ретинола ацетата в предложенном образце.

### 3.9. Лабораторная работа 26. Определение эргокальциферола

**Цель работы:** определение содержания эргокальциферола.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** хлороформ, хлорид сурьмы, 2 % ацетил хлорида, окись алюминия, эргокальциферол в хлороформе, диметилформамид, гидрохинон, 95 %-й этанол, 50 %-й раствор КОН, эфир для наркоза, фенолфталеин, безводный Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, хлороформ, хлорид сурьмы, содержащий 2 % ацетил хлорида, пробирки, делительные воронки, колбы, колбочки, хроматографические пластинки, хроматографическая камера, опрыскиватель весы аналитические; фотоэлектроколориметр.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

*1 этап:* 0,1 мл препарата растворяют в 1 мл хлороформа, прибавляют 6 мл раствора хлорида сурьмы, содержащего 2 % ацетил хлорида, при этом появляется оранжево-розовое окрашивание.

На стартовую линию пластинки с закрепленным слоем окиси алюминия наносят 0,02 мл раствора стандартного образца эргокальциферола в хлороформе для наркоза, содержащего в 1 мл 1,25 мг (50000 МЕ) эргокальциферола и 0,04 мл раствора препарата в хлороформе для наркоза (1 : 1 по объему).

Пластинку немедленно помещают в хроматографическую камеру с хлороформом для наркоза, к которому добавлено несколько капель диметилформамида (4-5 капель на 100 мл). Когда фронт растворителя пройдет на 10-12 см, пластинку вынимают и опрыскивают раствором хлорида сурьмы в хлороформе, содержащим 2 % ацетил хлорида. На хроматограмме появляется основное пятно эргокальциферола, окрашенное в оранжевый цвет.

Между этим пятном и стартовой линией допускается появление только одного дополнительного пятна.

*2 этап:* к точной навеске образца (около 1 г) добавляют 0,1 г гидрохинона, 30 мл 95 %-го спирта, 3 мл 50 %-го раствора КОН и нагревают на водяной бане с обратным холодильником течение 30 мин.

Содержимое колбы охлаждают, затем добавляют 50 мл воды и извлекают неомыляемую фракцию (эргокальциферол) в делительной воронке эфиром для наркоза при осторожном перемешивании, используя 1 раз 50 мл и 2 раза по 30 мл эфира.

Соединенные эфирные извлечения промывают водой по 30 мл до отрицательной реакции по фенолфталеину.

К промытому эфирному извлечению добавляют около 8 г безводного сульфата натрия и оставляют на 30 мин в темном месте, периодически встряхивая. Затем фильтруют через бумажный фильтр в колбу для перегонки. Сульфат натрия и фильтр промывают несколько раз эфиром по 10 мл, собирая эфир в ту же колбу.

Эфир отгоняют в токе инертного газа. Остаток растворяют в хлороформе, количественно переносят в мерную колбу емкостью 25 мл, доводят объем раствора хлороформом до метки и перемешивают. К 1 мл этого раствора в пробирке с притертой пробкой приливают 6 мл

раствора хлорида сурьмы, содержащего 2% ацетил хлорида. В течение 2 мин раствор переносят в кювету фотоэлектроколориметра с толщиной слоя 1 см и точно через 3 мин с момента добавления раствора хлорида сурьмы измеряют оптическую плотность раствора, используя светофильтр с максимумом пропускания 500 нм.

Установку прибора на ноль производят по хлороформу. Параллельно проводят реакцию с хлороформным раствором стандартного образца, содержащего в 1 мл 0,05 мг (2000МЕ) эргокальциферола.

Содержание эргокальциферола  $X$ , мг, в 1 мл препарата, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot 0,05 \cdot 25 \cdot P}{D_0 \cdot m}$$

где  $D_1$  – оптическая плотность хлороформного раствора неомыляемой фракции;

$D_0$  – оптическая плотность раствора стандартного образца эргокальциферола;

0,05 – содержание эргокальциферола в 1 мл раствора стандартного образца, мг;

$m$  – навеска препарата, г;

$P$  – плотность препарата, г/см<sup>3</sup>;

1 г эргокальциферола соответствует 40000000 МЕ витамина D<sub>2</sub>.

Содержание C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O в 1мл препарата должно быть 1,1-1,5 мг (44000-60000 МЕ).

### 3.10. Лабораторная работа 27. Определение токоферолов

**Цель работы:** определение содержания токоферола в препаратах.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Реактивы:** α-токоферолацетат «х.ч.» в масле (препарат содержит в 1 мл 100 мг α-токоферола), эфир этиловый (серный), спирт-ректификат (перегнанный над NaOH), абсолютный спирт, метиловый спирт, едкий натр «х.ч.»; 60 %-й водный раствор едкого калия; азотная кислота «х.ч.» (плотность 1,4); 1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина; 10 % раствор йодистого калия; углекислый газ.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Основой для химических методов определения витамина Е (в виде суммы токоферолов) служит способность токоферолов давать при окислении в определенных условиях окрашенные продукты реакции. Азотнокислый метод основан на колориметрическом измерении интенсивности красной окраски, возникающей при окислении токоферолов азотной кислотой в спиртовом растворе.

При определении витамина Е в масляных и спиртовых препаратах последние подвергают сначала щелочному гидролизу. Затем витамин Е извлекают серным эфиром, который удаляется в токе СО<sub>2</sub>. Полученный сухой остаток растворяют в абсолютном спирте и определяют витамин Е по реакции с азотной кислотой в вертикальном фотометре типа ФМ-56.

**Определение токоферолов в масляных и спиртово-сахарных препаратах.** Перед отбором проб препараты надо тщательно перемешать, многократно переворачивая флакон, особенно спиртово-сахарные, в которых при хранении выпадает осадок сахара.

Проба для анализа из стандартных препаратов равна 1-2 г, при исследовании концентратов α-токоферолацетата в масляном растворе взвешивают около 0,2 г. Навеску препарата помещают в колбу емкостью 100-150 мл, добавляют 2 мл водного 60 % раствора гидроксида калия, 10 мл этилового (или метилового) спирта и подвергают смесь омылению с обратным воздушным холодильником на водяной бане в течение 15 мин при температуре кипения спирта.

Омыленный раствор охлаждают, разбавляют 20 мл воды и переносят количественно в делительную воронку, в которой производят извлечение неомыляемой фракции серным эфиром. На первую экстракцию берут 50 мл, на две последующие – по 25 мл эфира. Эфирные вытяжки, соединенные вместе, промывают в делительной воронке 3-4 раза водой до удаления слоев щелочи (проба на лакмусовую бумажку или фенолфталеин) и высушивают безводным сернокислым натрием, которого берут 5-7 г. Высушенный прозрачный экстракт фильтруют, а

серноокислый натрий промывают на фильтре небольшим количеством эфира, присоединяемым к основному экстракту. Затем эфир отгоняют на водяной бане в токе  $\text{CO}_2$ , как и при определении витамина А.

Полученный сухой остаток растворяют в 5 мл абсолютного спирта в колбочке на 50-100 мл, сюда же приливают 1 мл концентрированной азотной кислоты (плотность 1,4 г/мл) и проводят окисление токоферолов на кипящей водяной бане. Для этого колбу закрывают пробкой с воздушным холодильником и кипятят смесь в течение 3 мин, не больше. Затем колбочку охлаждают проточной водой со льдом и оставляют на 15 мин в темноте до появления интенсивной окраски. После этого смесь переводят количественную в мерную колбочку на 25 мл и доводят абсолютным спиртом до метки.

Если при этом образуется осадок, то его отфильтровывают, но на фильтре не промывают, чтобы не изменить объема спиртового раствора.

В конечном растворе витамин Е должен содержаться в количестве не менее 100 и не более 400 гамм в 1 мл, так, как только в этих пределах можно проводить определение по интенсивности окраски, образующейся при окислении витамина Е азотной кислотой.

В полученном окрашенном спиртовом растворе витамин Е определяют по оптической плотности D, величину которой находят при помощи фотометра или фотоэлектроколориметра, применяя синий светофильтр, имеющий максимум пропускания в области спектра  $\lambda = 470$  нм.

В качестве контрольного раствора применяют абсолютный этиловый спирт, 5 мл которого нагревают так же, как исследуемый раствор, с 1 мл концентрированной азотной кислоты в течение 3 мин на кипящей водяной бане.

Охлажденную смесь разбавляют абсолютным спиртом до того же объема, что и проба исследуемого раствора.

Измерения делают не менее 3 раз и берут их среднее арифметическое значение. Концентрацию витамина Е в исследуемом растворе находят по калибровочному графику, где каждому значению найденной плотности соответствует определенное содержание витамина Е в 1 мл раствора.

Калибровочный график составляют по серии стандартных спиртовых растворов с возрастающей концентрацией  $\alpha$ -токоферола в пределах от 100 до 400 гамм в 1 мл. Содержащийся в этих растворах  $\alpha$ -токоферол окисляют азотной кислотой и по интенсивности окраски находят величину экстинкции (оптической плотности D) для каждого раствора.

Для приготовления стандартных растворов может служить масляный препарат, содержащий в 1 мл 100 мг  $\alpha$ -токоферолаацетата. Навеску такого препарата в 0,5 г омыляют спиртовым раствором КОН, как указано выше.

Выделенную неомыляемую фракцию (остаток после отгонки эфира) растворяют в мерной колбочке в 50 мл абсолютного спирта. Из этого раствора, содержащего по расчету в 1 мл 100 гамм  $\alpha$ -токоферола, отбирают пипеткой в колбочки на 50-100 мл точно отмеренные 1, 2, 3, и 4 мл спиртового раствора. К указанным количествам добавляют абсолютный спирт соответственно 4, 3, 2, 1 мл, чтобы объем жидкости составлял 5 мл. Затем в каждую колбочку наливают по 1 мл азотной кислоты (плотностью 1,4) и проводят реакцию окисления на кипящей водяной бане в течение 3 мин, после чего в колбочку охлаждают и оставляют на 15 мин в темноте. По истечении этого времени объем каждой жидкости доводят абсолютным спиртом до 10 мл.

В результате получают растворы, содержащие в 1 мл соответственно первоначально взятым количествам исходного раствора 100, 200, 300 и 400 гамм  $\alpha$ -токоферола. В приготовленных растворах, окрашенных в результате реакции в розово-красный цвет, проводят определение экстинкции плотности D на фотоколориметре.

Калибровочный график вычерчивают, нанося на оси ординат найденные для каждого раствора значения экстинкции, а по оси абсцисс – соответствующие им концентрации  $\alpha$ -токоферола (г на 1 мл).

Содержание витамина Е в спиртовых или масляных растворах  $X$ , мг, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V \cdot p}{m \cdot 1000}$$

где  $C$  – найденное по калибровочному графику количество витамина Е в 1 мл, гамм;

$V$  – общий объем исследуемого раствора, с учетом всех разведений, мл;

$p$  – плотность исследуемых растворов, г/см<sup>3</sup>;

$m$  – навеска препарата, г;

1000 – коэффициент для перевода числа гамм в мг.

**Задание:** определите содержание токоферола в предложенном образце препарата.

### 3.11. Лабораторная работа 28. Определение суммы токоферолов

**Цель работы:** определение содержания суммы токоферолов методом колоночной хроматографии.

**Методические материалы:** методы анализа растительного сырья [12].

**Оборудование и реактивы:** этиловый спирт; пирогаллол; 0,5 % раствор дипиридилла в этиловом спирте; 60 % водный раствор КОН, эфир серный; 0,2 % раствор хлорного железа в абсолютном спирте, бензол, натрий серноокислый безводный, адсорбент КСК-2 или КСК, спекол, вакуумный насос, ротационный испаритель, колонки для хроматографии.

**Методические рекомендации для выполнения работы:**

Определение суммы токоферолов (витамина Е) методом колоночной хроматографии основано на образовании хинонов при окислении молекул токоферола хлорным железом. При этом хлорное железо восстанавливается до хлористого, количество которого определяется по интенсивности окраски при добавлении  $\alpha$ - $\alpha'$ -дипиридила или ортофенантролина. Интенсивность окраски прямо пропорциональна витамину Е в пробе (Эммер-Энгле).

Навеску (2-3 г комбикорма, 3 г зерна, 50-100 мл молока, молозива 25 мл) помещают в колбу, приливают 20 мл дистиллированной воды, 20 мл этилового спирта, 50 мг пирагаллола, 5-10 мл 60 %-го водного раствора щелочи. Омыление проводят на кипящей водяной бане в течение 1 часа.

После окончания омыления приливают 40 мл дистиллированной воды и смесь количественно переносят в делительную воронку. Витамин «Е» экстрагируют трижды серным эфиром (50-30-30 мл).

В нижний слой переходит хлорофилл, а в верхний эфирный – токоферолы и каротиноиды. Эфирный экстракт объединяют и промывают в делительной воронке дистиллированной водой, в присутствии фенолфталеина, до нейтральной реакции.

Затем эфирный экстракт переносят в колбу, прибавляют серноокислый натрий и подсушивают экстракт в течение 30 минут (можно оставить до следующего дня).

После этого фильтруют и серный эфир отгоняют на роторном испарителе, в токе азота (0,1 атм) на теплой водяной бане. Сухой остаток растворяют в 3 мл бензола.

Требуется обязательная очистка исследуемых образцов от примесей. С этой целью используют колоночную хроматографию с адсорбентами КСК-2 или диатомитом.

Для хроматографии на КСК-2 пользуются адсорбционной колонкой высотой 25-30 см с внутренним диаметром 0,8 см, верхний конец колонки расширен в виде воронки. На нижний конец колонки надевают пробку, которую плотно вставляют в колбу Бунзена. Перед анализом в нижний суженый конец колонки помещают кусочек ваты, довольно плотно входящий, заполняют небольшими порциями КСК-2 при вакууме. Высота слоя адсорбента (КСК-2) должна быть 4-5 см. поверх слоя адсорбента помещают безводный серноокислый натрий слоем 0,5 см. Адсорбент смачивают 3 мл бензола под вакуумом. Затем сухой остаток, растворенный в 3 мл бензола, из конической колбы количественно переносят в адсорбционную колонку. После того как адсорбент впитал в себя весь окрашенный экстракт, 25 мл бензола элюируют токоферолом.

До полного элюирования токоферола нужно дать возможность сине-окрашенной зоне каротина спуститься до самого низа колонки, но не допускать попадания в фильтрат. Фильтрат получается бесцветным и прозрачным, его переносят в круглодонную колбу емкостью 100 мл и растворитель отгоняют под вакуумом в токе азота на водяной бане.

После выпаривания растворителя остаток в той же колбе растворяют в 3 мл чистого бензола и сливают в мерную колбу емкостью 25 мл, круглодонную колбу несколько раз ополаскивают маленькими порциями абсолютного спирта, сливая промывную жидкость в мерную колбу. К содержимому колбы добавляют 1 мл 0,2 %-го раствора хлорного железа и 1 мл 0,5 %-го раствора  $\alpha$ - $\alpha_1$ -дипиридила, хорошо перемешивают. Доливают этиловым спиртом до метки и ставят в темное место на 10 минут.

Интенсивность окраски раствора измеряют колориметрированием на спекле.

Одну кювету высотой 1 см исследуемым раствором, другую – контрольным (реактивы, включая бензол, спирт, растворы хлорного железа и диспиридила, взяты в том же количестве, как и для получения исследуемого раствора). Колориметрирование проводят при длине волны 490 нм, в кювете 1 см. прибор настраивается на «0» по этиловому спирту.

Содержание токоферолов X, мкг/г, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot C}{m}$$

где C – найденное по калибровочному графику количество витамина E в  $\gamma$ /мл или  $\gamma$ /мг;

V – разведение, 25 мл;

m – навеска вещества, г.

При подсчете количества витамина E контрольная проба вычитается.

Например, исследуемый раствор на спекле показал 0,150,

Контрольный раствор ----- 0,050

Тогда:  $0,150 - 0,050 = 0,100$ .

Последнюю цифру смотрим по графику, это и будет «A» в формуле.

Нельзя определять количество витамина E в пробах, не очищенных на адсорбенте. Реакция с хлорным железом дает окрашивание с каротином, каротиноидами и другими веществами. Без колоночной хроматографии полученные данные будут значительно завышены.

**Задание:** определите содержание суммы токоферолов методом колоночной хроматографии в исследуемом препарате.

### **Контрольные вопросы:**

1. По каким признакам проводится классификация витаминов? Укажите растворители, которые используют при определении витаминов?
2. Сравните химическую природу известных жиро- и водорастворимых витаминов. Какой вывод можно сделать о связи строения и выполняемой в организме функции витамина?
3. Чем отличаются витамины от витаминов? Приведите примеры витаминов, существующих в виде нескольких витаминов.
4. Каковы причины появления авитаминоза, гиповитаминоза, гипервитаминоза?
5. Какой витамин был впервые обнаружен? В чем заключается его биологическая активность?
6. Назовите основные источники витаминов группы B. Какую биологическую роль выполняют витамины группы B?
7. Составьте формулу витамина B<sub>1</sub>. Объясните, что происходит при действии диасоединения на витамины группы B.
8. Каковы источники витамина C (аскорбиновой кислоты?). Как проявляется авитаминоз при недостатке витамина C? Изобразите формулу аскорбиновой кислоты (окисленную и восстановленную формы).
9. Напишите уравнение реакции аскорбиновой кислоты с образованием дегидроаскорбиновой кислоты.

10. Назовите основные продукты, являющиеся источниками витамина А. Какую биологическую роль выполняет витамин А?
11. Укажите химизм взаимодействия витамина А с сульфатом железа (II) и объясните образование окрашенного соединения.
12. Какие продукты являются источниками витаминов группы Д? Какое заболевание развивается при отсутствии витамина Д?
13. Приведите формулу витамина Д, объясните образование окрашенного соединения при действии анилина в соляной кислоте.
14. Назовите основные продукты, являющиеся источниками витамина Е. Какую биологическую роль выполняет витамин Е?
15. Приведите формулу витамина Е, объясните образование окрашенных хинонов при окислении молекул токоферола хлорным железом.

***Задачи для самостоятельной работы:***

***Задача 1.***

Весной у многих людей развивается гиповитаминоз, обусловленный снижением в пище количества витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, РР. Наиболее характерными признаками этих гиповитаминозов являются сонливость и повышенная утомляемость. Объясните:

- А) почему дефицит витамина РР может привести к таким состояниям;
- Б) для объяснения представьте схемы метаболических путей, в которых принимает участие витамин РР;
- В) почему дефицит витамина В<sub>2</sub> может привести к описанным состояниям;
- Г) для объяснения представьте схемы метаболических путей, в которых принимает участие витамин В<sub>2</sub>;
- Д) почему дефицит витамина В<sub>1</sub> может привести к таким состояниям? Представьте схемы метаболических путей, для которых необходим витамин В<sub>1</sub>;
- Е) для объяснения представьте схемы метаболических путей, в которых принимает участие витамин В<sub>1</sub>;
- Ж) Напишите структурные формулы этих витаминов. Объясните механизм обнаружения витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, РР с помощью соответствующих реагентов?

***Задача 2.***

Витамины А, Д, Е вырабатываются в животных организмах. Наиболее характерными признаками гиповитаминоза являются ослабление зрения, нарушение кальцификации растущих костей и процесса оплодотворения. Объясните:

- А) почему дефицит витамина А может привести к таким состояниям;
- Б) для объяснения представьте схемы метаболических путей, в которых принимает участие витамин А;
- В) почему дефицит витамина Д может привести к описанным состояниям;
- Г) для объяснения представьте схемы метаболических путей, в которых принимает участие витамин Д;
- Д) почему дефицит витамина Е может привести к таким состояниям? Представьте схемы метаболических путей, для которых необходим витамин Е;
- Е) для объяснения представьте схемы метаболических путей, в которых принимает участие витамин Е.
- Ж) Напишите структурные формулы этих витаминов. Объясните механизм обнаружения витаминов А, Д, Е с помощью соответствующих реагентов?

### **Задача 3.** Алое источник фолиевой кислоты



#### **Научно-популярная информация:**

Родиной алое является Южная Африка и Мадагаскар.

Миссис Крейг жена генерала, служившего в африке, любила собирать экзотичные растения. Однако о целебных свойствах алоэ она не знала. Но однажды горничная миссис Крэйг, убирая ее комнату, сделала неловкое движение и... один лист цветка отломился.

Испугавшись гнева хозяйки, горничная просто воткнула лист в землю, надеясь, что хозяйка этого не заметит. Но спустя некоторое время горничная обнаружила, что этот лист и не думает умирать: напротив, от него пошли в рост и другие листья!

**Задание:** напишите структурную формулу фолиевой кислоты. Какую биологическую роль выполняет фолиевая кислота в организме человека? Какова суточная норма фолиевой кислоты? Каковы последствия при переизбытке ее в организме человека?

### **Задача 4.** Знали ли вы что в плодах шиповника в 50 раз больше витамина С, чем в лимоне?



#### **Научная информация:**

Шиповник является поливитаминным сырьем. Особенно в нем преобладает витамин С, что является его природным хранилищем. В плодах шиповника аскорбиновой кислоты в 10 раз больше, чем в ягодах черной смородины, и в 50 раз больше, чем в лимонах. Поэтому шиповниковый чай без преувеличения можно назвать одним из лучших домашних средств от простуд и вирусов. В 100 г плодах шиповника содержится витамина С – около 700 % суточной потребности человека.

Ведь, человеческий организм не способен накапливать запас витамина С, поэтому он нуждается в этом ценном веществе ежедневно.

**Задание:** Содержание витамина С в 100 г шиповника 2100 мг. Сколько надо съесть плодов шиповника, чтобы обеспечить дневную норму витамином С? (норма 50 мг)

#### **Задача 5.** Бадан толстолистный – источник витаминов



##### **Научная информация:**

В бадане обнаружена аскорбиновая кислота до 260 мг%, свободные и связанные сахара от 1,46 до 2,55%. Сумма липофильной фракции 2,29-3,23%, в нее входят хлорофилл 1,15-1,35 %, каротиноиды 0,73-1,48 %, ретинолы 0,02-0,05 %, токоферолы 0,13-0,54 %.

Известно, что бадан используют для лечения и профилактики острых и хронических заболеваний, вызванных микроорганизмами. Так, зеленые листья применяют при ожогах как противовоспалительное средство. Применяется при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, при простых и кровавых поносах эффективны листья бадана – проявляется вяжущее действие. Сырье применяют при сухом кашле, крупозной пневмонии, туберкулезе легких. При диуретических заболеваниях как антимикробное и мочегонное средство.

**Задание:** приведите структурные формулы аскорбиновой кислоты, каротиноидов, хлорофиллов, ретинолов и токоферолов. С помощью каких качественных реакций можно их обнаружить в бадане? Приведите схему количественного анализа вышеперечисленных витаминов в составе бадана.

#### **Задача 6.** Крапива – источник витамина К



##### **Научная информация:**

Из лубяных волокон крапивы издавна изготавливали веревки, рыболовные сети и прочные мешковинные ткани.

В листьях крапивы содержится значительное количество аскорбиновой кислоты, каротин, витамины групп В и К, муравьиная, пантотеновая и другие органические кислоты, дубильные и белковые вещества, камеди, фитонциды, протеины, сахара, соли железа, калия и кальция, сера.

**Задание:** какие лечебные свойства придают крапиве витамины С, К, В<sub>2</sub>, каротин и пантотеновую кислоту. Приведите их структурные формулы и с помощью каких качественных реакций можно их обнаружить в крапиве?

Приведите схему количественного анализа вышеперечисленных витаминов в составе крапивы.

### Список литературы:

1. Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0005.15. Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. <https://pharmacopoeia.ru/wp-content/uploads/2016/09/OFS.1.1.0005.15-Otbor-prob-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya-i-lekarstvennyh-rastitelnyh-preparatov.pdf> (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
2. Гост 24027.0-80. Сырье лекарственное растительное. Правила приёмки и методы отбора проб. <https://docs.cntd.ru/document/1200022938> (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
3. ГОСТ 24027.0-80. Сырье лекарственное растительное. Методы определения подлинности, зараженности амбарными вредителями, измельченности и содержания примесей. <https://docs.cntd.ru/document/1200022938> (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
4. ГОСТ Р 59425-2021. Продукция органическая из дикорастущего сырья. Правила сбора, заготовки, переработки, хранения, транспортировки и маркировки. [https://rosorganic.ru/files/gost\\_r\\_59425-2021.pdf](https://rosorganic.ru/files/gost_r_59425-2021.pdf) (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
5. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия: учебное пособие / под ред. Г.П. Яковлева. – СПб. : СпецЛит, 2006. – 845 с. – Текст : непосредственный.
6. Общие числовые показатели лекарственного растительного сырья. <https://studfile.net/preview/5134177/page:4/> (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
7. Государственная фармакопея РФ. XIV издание. I – IV том. <http://pharmacopoeia.ru/index.htm> (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
8. Гост 24027.2-80. Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных веществ и дубильных веществ, эфирного масла. [http://betagamma.ru>img/34297.pdf](http://betagamma.ru/img/34297.pdf) (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
9. Мирович, В.М. Биологически активные вещества растений / В. М. Мирович, Е. Г. Привалова. — Иркутск : ИГМУ, 2018. — 70 с. – Текст : непосредственный.
10. Тринеева, О.В., Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, С. С. Воропаева // Вестник ВГУ, Серия : Химия. Биология. Фармация, 2013, № 2. - 215 – 219. <http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2013/02/2013-02-44.pdf> (дата обращения: 28.02.2023). – Текст : электронный.
11. Ушанова, В. М. Основы научных исследований. Ч. 2. Контроль качества и экстрагирование растительного сырья: учебное пособие / В. М. Ушанова, О. И. Лебедева, А. Н. Девятловская. – Красноярск : СибГТУ, 2004. – 168 с. – Текст : непосредственный.
12. Ушанова, В. М. Основы научных исследований. Ч. 3. Исследование химического состава растительного сырья: учебное пособие / В. М. Ушанова, О. И. Лебедева, А. Н. Девятловская. – Красноярск : СибГТУ, 2004. – 360 с. – Текст : непосредственный.

Ооржак Урана Спартаковна  
Кашкак Елена Сергеевна  
Лопсан-Ендан Анай-Кара Баз-ооловна

**ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.  
Часть 1**

*Учебно-методическое пособие*

Редактор Е.К. Сенди  
Дизайн обложки К.К. Сарыглар

Сдано в набор. 20.04.2023. Подписано к печати. 11.05.2023.  
Формат бумаги 60×84 <sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная.  
Физ. печ. л. 9,3. Усл. печ. л. 8,7. Заказ №. 1826 Тираж 50 экз.

667000, г. Кызыл, ул. Ленина 36.  
Тувинский государственный университет  
Издательство ТувГУ.