

УДК 615.322

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2021.47.11.003>

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕССНОЙ МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ ИНУЛИНА ИЗ КОРНЕЙ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО

Н.А. Дьякова, канд. биол. наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»), г. Воронеж, office@main.vsu.ru

Инулин – природный растительный полифруктозан, значение которого в современной медицине и фармации, а также пищевой промышленности сложно переоценить. Имеющиеся запатентованные технологии получения инулина отличаются малым выходом продукта и значительной длительностью. Целью исследования являлась разработка экспрессной методики выделения и количественного определения инулина из корней девясила высокого (*Inula helenium L.*). Для ускорения процесса извлечения биологически активных веществ из корней девясила высокого, а также увеличения выхода инулина решено было использовать ультразвуковую ванну. Варьируя показателями процесса, удалось подобрать оптимальные условия экстрагирования инулина из корней девясила высокого в условиях обработки ультразвуком: измельченность сырья 0,5–1,0 мм, температура – 80°C, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 15 мин., частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 15 мл. Дальнейшее увеличение времени экстракции в условиях ультразвуковой ванны приводит, очевидно, к деструкции водорастворимых полисахаридов. Также были подобраны оптимальные условия очистки полисахаридного комплекса корней девясила высокого с получением чистого инулина. Предлагаемый способ позволяет интенсифицировать процесс получения инулина из корней девясила вы-

сокого и снизить время, расходуемое на него, до 6–7 часов, а также увеличить выход продукта до $20,63 \pm 0,36\%$ в пересчете на абсолютно сухое сырье. Методика может быть использована для экспрессного анализа качества корней девясила высокого и для промышленного получения инулина из данного вида сырья.

Ключевые слова: инулин, водорастворимые полисахариды, ультразвук, девясил высокий

Инулин – природный полифруктозан, который частично расщепляется в желудочно-кишечном тракте до фруктозы, значение которого в современной медицине и фармации, а также пищевой промышленности сложно переоценить. Нерасщепленная часть инулина, будучи активным сорбентом, выводит из организма массу токсинов – от тяжелых металлов, радионуклидов до излишков липопротеинов низкой плотности. Инулин, являясь пребиотиком, способствует нормальному функционированию желудочно-кишечного тракта, что особенно актуально, так как, по данным Росздравнадзора, до 90% россиян страдают той и иной степенью дисбактериоза. К тому же инулин проявляет прокинетическую активность, стимулируя сократительную способность кишечной стенки и обеспечивая нормальный стул. На основе инулина производится масса лекарственных препаратов и биологически активных добавок, в том числе отечественных. Благодаря своему

увлажняющему и пребиотическому действию, инулин используется в косметологии, при производстве кремов, гелей для душа, шампуней и кондиционеров, антиперспирантов, масок и сывороток, косметических средств для детей. Инулин – востребованный сахарозаменитель для больных сахарным диабетом. Кроме того, инулин играет роль жирозаменителя и используется для производства низкокалорийных кондитерских и молочных продуктов [1–3].

Инулин получают исключительно из растительных объектов путем экстракции водой с последующей очисткой. Имеющиеся запатентованные технологии получения инулина отличаются малым выходом продукта и значительной длительностью, экстракция сырья занимает до 3–5 суток [4,5]. Основные промышленные источники инулина на сегодняшний день – специально выращиваемое сырье: клубни топинамбура (до 18% инулина), корни цикория (до 40% инулина). При этом «цикорный» инулин имеет противопоказания для людей с варикозным расширением вен и хроническими заболеваниями органов дыхания. Широко известны и другие источники инулина, в частности, такие доступные растительные объекты, обладающие значительными сырьевыми запасами на территории Российской Федерации, как лопух обыкновенный, одуванчик лекарственный, девясил высокий [6].

Девясил высокий (*Inula helenium* L. – syn.: *Aster helenium* (L.) Scop., *Aster officinalis* All., *Corvisartia helenium* (L.) Mérat, *Helenium grandiflorum* Gilib.) – вид многолетних растений рода Девясил (*Inula*), семейства астровые (*Asteraceae*), произрастает повсеместно в Европе, Азии и Африке [7–9]. Существует способ получения инулина из корней девясила высокого, включающий подготовку инулинсодержащего сырья, его механическую очистку, промывание корней, корневищ, стеблей, их измельчение и перемешивание. Перемешанные и измельченные кусочки сырья дважды экстрагируют горячей водой при температуре 75°C в течение 2–3 суток при посто-

янном перемешивании. Полученный экстракт инулина массой обрабатывают 96%-ным этиловым спиртом в соотношении 1:1 по объему с последующим осаждением инулина при температуре минус 16°C. Недостатком данного способа является длительность процесса, низкий выход инулина и большое количество примесей в готовом продукте [10].

Одним из перспективных физических методов воздействия на вещества с целью интенсификации технологических процессов является метод, основанный на использовании механических колебаний ультразвукового диапазона. Установлено, например, что ультразвуком частотой 19–44 кГц можно извлекать флавоноиды, дубильные вещества, фенольные гликозиды, кумарины, антоцианы из растений с сокращением процесса экстракции на 1–2 порядка [11]. При этом не только значительно ускоряется процесс извлечения из растений полезных веществ, но и увеличивается выход основного продукта по сравнению с другими методами экстрагирования [12,13].

Цель исследования – разработка экспрессной методики получения инулина из корней девясила высокого с использованием ультразвуковой ванны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для интенсификации процесса извлечения водорастворимых полисахаридов (ВРПС) применяли ультразвуковую ванну «Град 40–35», взвешивание проводили на аналитических весах «A&D GH-202», высушивание до постоянной массы – в сушильном шкафу «Витязь ГП-40». В качестве экстрагента использовали воду очищенную, остальные параметры процесса подбирались экспериментально.

При разработке методики использовали корни девясила высокого, приобретенные в одной из аптек города Воронежа (производитель – ООО «Фитофарм», серия 170617).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изначально были определены оптимальные условия извлечения из корней девясила высокой суммы ВРПС с использованием ультразвуковой ванны. Варьировали измельченность сырья, температурный режим экстрагирования, кратность и длительность экстрагирования, соотношение сырья и экстрагента, а также частоту ультразвука. Все определения проводили в трех повторностях. Результаты эксперимента приведены в таблицах 1, 2, 3.

Таким образом, подобраны оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней девясила высокого: измельченность сырья – 0,5–1,0 мм, температура – 80°C, кратность

извлечения – 3, длительность экстракций – 15 минут, частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 15 мл. Дальнейшее увеличение времени экстракции в условиях ультразвуковой ванны приводит, очевидно, к деструкции водорастворимых полисахаридов. Использование ультразвука с частотой выше 40 кГц также приводит к деструкции биологически активных веществ и в технологии фитопрепаратов не применяется [11].

Дальнейшие исследования были направлены на разработку метода очистки полученных водорастворимых полисахаридов из корней девясила высокого. Получаемый после осаждения водорастворимых полисахаридов

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВРПС (% В ПЕРЕСЧЕТЕ НА АБСОЛЮТНО СУХОЕ СЫРЬЕ В КОРНЯХ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО ПРИ ВАРЬИРОВАНИИ ИЗМЕЛЬЧЕННОСТИ СЫРЬЯ И ТЕМПЕРАТУРЫ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ВАННЫ (ПРИ ТРЕХКРАТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ПО 15 МИНУТ С ЧАСТОТОЙ УЛЬТРАЗВУКА 35 КГЦ, СООТНОШЕНИИ СЫРЬЯ И ЭКСТРАГЕНТА 1 Г НА 15 МЛ)

Температура, °С	Измельченность сырья, мм		
	0,2–0,5	0,5–1,0	1,0–2,0
60	15,32±0,40	15,19±0,34	12,25±0,50
70	22,42±0,26	24,90±0,37	18,28±0,42
80	26,12±0,25	31,57±0,44	25,99±0,39

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВРПС (% В ПЕРЕСЧЕТЕ НА АБСОЛЮТНО СУХОЕ СЫРЬЕ) В КОРНЯХ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО ПРИ ВАРЬИРОВАНИИ КРАТНОСТИ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ (ПРИ ИЗМЕЛЬЧЕННОСТИ СЫРЬЯ 0,5–1,0 ММ, ТЕМПЕРАТУРЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ВАННЫ 80°C С ЧАСТОТОЙ УЛЬТРАЗВУКА 35 КГЦ, СООТНОШЕНИИ СЫРЬЯ И ЭКСТРАГЕНТА 1 Г НА 15 МЛ)

Длительность экстракций, мин.	Кратность экстракции		
	1	2	3
10	11,34±0,40	18,47±0,40	24,68±0,34
15	15,78±0,51	20,80±0,52	31,57±0,42
20	16,80±0,32	22,97±0,60	28,96±0,40

Таблица 3

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ОПРЕДЕЛЕНИЙ ВРПС (% В ПЕРЕСЧЕТЕ НА АБСОЛЮТНО СУХОЕ СЫРЬЕ) В КОРНЯХ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО ПРИ ВАРЬИРОВАНИИ СООТНОШЕНИЯ СЫРЬЯ И ЭКСТРАГЕНТА И ЧАСТОТЫ УЛЬТРАЗВУКА (ПРИ ТРЕХКРАТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ПО 15 МИНУТ, ИЗМЕЛЬЧЕННОСТИ СЫРЬЯ 0,5–1,0 ММ, ТЕМПЕРАТУРЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ВАННЫ 80°С)

Соотношение сырья и экстрагента (г:мл)	Частота ультразвука, кГц		
	15	25	35
1:10	14,68±0,30	21,86±0,43	23,49±0,30
1:15	15,86±0,45	26,37±0,30	31,57±0,44
1:20	16,90±0,37	24,30±0,52	27,96±0,46

этанолом осадок содержит примеси пектина, некоторых пигментов, некоторые органические кислоты. Для удаления пектинов решено было после растворения полученного осадка ВРПС в воде провести взаимодействие с солью кальция, а для очистки от пигментов – с мелкодисперсным алюминия оксидом [14]. После фильтрования полученного осадка примесей под вакуумом решено было удалить оставшиеся примеси путем пропускания раствора через колонки катионита и анионита, для чего были выбраны ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17–8 и катионитом в водородной форме КУ-2–8.

Степень очистки готового продукта проводили методом тонкослойной хроматографии, сравнивая со стандартным образцом инулина (пластинки – Silufol, система – 55%-ный этанол, проявитель – растворы резорцина и кислоты серной разведенной с последующим нагреванием, $R_f \sim 0,81$) [15,16].

Комплекс проведенных экспериментальных работ дает возможность предложить следующую методику выделения и последующего количественного гравиметрического определения инулина в корнях девясила высокого. Для получения инулина аналитическую пробу сырья измельчают до частиц размером 0,5–1,0 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью

50 мл, прибавляют 15 мл воды очищенной, нагретой до температуры кипения, помещают в ультразвуковую ванну с частотой 35 кГц при температуре 80°С, экстрагируют 15 мин. Экстракцию повторяют еще 2 раза, прибавляя по 15 мл воды. Водные извлечения объединяют и фильтруют через 3 слоя марли с подложенным тампоном ваты, вложенных в стеклянную воронку диаметром 5 см. Осаждение проводят трехкратным количеством 95%-го этилового спирта, перемешивают, охлаждают в морозильной камере при температуре –18°С в течение 1 часа. Затем содержимое колбы фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный беззольный бумажный фильтр, проложенный в стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом при остаточном давлении 0,4–0,8 атм. Полученный осадок растворяют в 10 мл нагретой до 80°С воде очищенной, добавляют 5 капель 50%-го раствора кальция хлорида и 0,5 г мелкодисперсного порошка алюминия оксида, выдерживают 20 мин., затем фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 0,4–0,8 атм. Полученный фильтрат последовательно пропускают через ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17–8 и катионитом в водородной форме КУ-2–8 с учетом емкости ионообменных смол до рН элюата 6,5–7,5 и степени чистоты инулина, равной 97%.

Таблица 4

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНУЛИНА В КОРНЯХ ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО

N	f	X	S ²	S	S _x	P, %	t(P, f)	Δx	ε, %
10	9	20,63	0,02552	0,15975	0,05052	95	2,2622	0,36	1,75

Для осаждения инулина к элюату вновь добавляют трехкратное количество 95%-го этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре –18°С в течение 1 часа, фильтрование осадка проводят через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4–0,8 атм. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора 95%-го этилового спирта в очищенной воде (3:1), 10 мл смеси этилацетата и 95%-го этилового спирта (1:1). Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100–105°С до постоянной массы.

Содержание инулина в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по стандартной формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)},$$

где m_1 – масса высушенного фильтра, г; m_2 – масса высушенного фильтра с осадком, г; m – навеска сырья, г; W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Предлагаемый способ позволяет интенсифицировать процесс получения инулина из корней девясила высокого и снизить время, расходуемое на него, до 6–7 часов, а также увеличить выход продукта до 20,63±0,36% в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Метрологические характеристики приведены в табл. 4, где N – число повторностей, f – число степеней свободы, X – среднее значение определяемой величины, S² – дисперсия, S – стандартное отклонение, S_x – стандартное

отклонение средней величины, P – доверительная вероятность, t(P, f) – критерий Стьюдента, Δx – полуширина доверительного интервала величины, ε – относительная ошибка среднего результата. Таким образом, относительная ошибка предлагаемой методики при доверительной вероятности 95% составляет 1,75%.

ВЫВОДЫ

Разработана экспрессная методика выделения и количественного определения инулина из корней девясила высокого, которая может быть использована при контроле качества данного вида сырья и промышленном получении инулина. Подобраны оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней девясила высокого: измельченность сырья – 0,5–1,0 мм, температура – 80°С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 15 мин., частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 15 мл. Кроме того, подобраны оптимальные условия очистки полисахаридного комплекса корней девясила высокого, которые сводятся к осаждению пектинов солями кальция, абсорбции пигментов алюминия оксидом с последующим пропусканием экстракта через ионообменные колонки. Предлагаемая методика позволяет интенсифицировать процесс получения инулина из корней девясила высокого и снизить время, расходуемое на него, до 6–7 часов, а также увеличить выход продукта до 20,75% в пересчете на абсолютно сухое сырье.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Перковец М.В. *Инулин и олигофруктоза – натуральные пребиотики в питании детей раннего возраста* // Пищевые ингредиенты, сырье и добавки. 2009. №1. – С. 40–41.
2. Дьякова Н.А. *Разработка и валидация экспресс-методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов листьев лопуха большого (Arctium lappa L.)* // Химия растительного сырья. 2018. №4. – С. 81–87.
3. Шушунова Т.Г. и др. *Выделение инулина из корней одуванчика лекарственного с использованием ультразвука* // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 6-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016». – Воронеж: ИПЦ ВГУ. 2016. – С. 609–612.
4. Патент 2351166 (РФ). *Способ получения инулина из одуванчика лекарственного* / Е.А. Струпан, О.А. Струпан / 2009. Бюлл. №10. – 6 с.
5. Патент 2360927 (РФ). *Способ получения инулина из растительного сырья* / Е.А. Струпан, О.А. Струпан / 2009. Бюлл. №19. – 6 с.
6. Куркин В.А. *Фармакогнозия*. СамГМУ, – Самара. 2004. – 1180 с.
7. Губанов И.А. и др. *Inula helenium L. – Девясил высокий* // Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 т. – М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. иссл., 2004. Т. 3. *Покрывосеменные (двудольные: раздельнолепестные)*. – С. 444.
8. *Ботанико-фармакогностический словарь: справ. пособие под ред. К.Ф. Блиновой и Г.П. Яковлева*. – М.: Высшая школа, 1990. – 206 с.
9. *Универсальная энциклопедия лекарственных растений* / сост. И.Н. Путырский, В.Н. Прохоров. – М.: Махаон, 2000. – С. 115–116.
10. Патент 2619758 (РФ). *Способ получения инулина из смеси дикорастущих растений* / В.А. Цагаев, А.С. Хамицаева, Ф.И. Будаев, И.А. Хадаева, Б.Б. Бритаев / 2017. Бюлл. №17. – 6 с.
11. Молчанов Г.И., Молчанов А.А., Кубалова Л.М. *Фармацевтические технологии: современные электрофизические биотехнологии в фармации*. – Москва: Альфа-М. 2011. – 307 с.
12. Dyakova N.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P., Myndra A.A., Shushunova T.G., Samylina I.A. *Development and validation of an express technique for isolation and quantitative determination of water-soluble polysaccharides from roots of Taraxacum officinale Wigg* // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018. V. 52. №4. – P. 343–346.
13. Dyakova N.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P., Myndra A.A., Samylina I.A. *Development and validation of an express method for assay of water-soluble polysaccharides in common burdock (Arctium lappa L.) roots* // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015. V. 49. №9. – P. 620–623.
14. Патент 2485958 (РФ). *Способ получения инулина из инулинсодержащего растительного сырья, в частности из клубней топинамбура, для медицинских и пищевых целей* / Т.И. Смирнова, А.К. Осербаев, А.В. Алексеев, Е.Д. Малахаев, Д.С. Муравьев / 2013. Бюлл. №18. – 9 с.
15. Шматков Д.А., Беляков К.В., Попов Д.М. *Определение инулина в корнях лопуха большого* // *Фармация*. 1998. №6. – С. 17–20.
16. Рудаков О.Б. и др. *Исследование продуктов комплексной переработки топинамбура методом гельпроникающей и тонкослойной хроматографии* // *Сорбционные и хроматографические системы*. 2010. Т. 10. №6. – С. 916–922.

DEVELOPMENT OF AN EXPRESS TECHNIQUE FOR THE ISOLATION OF INULIN FROM THE ROOTS OF THE ELECAMPANE (*INULA HELENIUM* L.)

N.A. Dyakova

Voronezh State University, Voronezh, Russia

*Inulin is a natural plant polyfructosan, the importance of which in modern medicine and pharmacy, as well as the food industry, is difficult to overestimate. Having patented technologies for producing inulin, they are characterized by low product yield and significant duration. The purpose of the study was to develop an express method for isolating and quantifying inulin from the roots of the elecampane (*Inula helenium* L.). To speed up the process of extracting biologically active substances from the roots of the elecampane, as well as increase the yield of inulin, it was decided to use an ultrasonic bath. Varying the process parameters, it was possible to select the optimal conditions for extracting inulin from the roots of the *Inula helenium* L. in ultrasound treatment conditions: crushing of the raw materials 0.5–1.0 mm, temperature – 80°C, extraction rate – 3, extraction duration – 15 minutes, ultrasound frequency – 35 kHz, ratio of raw materials to extractant 1 g per 15 ml. Further increase of extraction time under ultrasonic bath conditions obviously leads to destruction of water-soluble polysaccharides. Optimal conditions for purification of polysaccharide complex of elecampane roots to obtain pure inulin were also selected. The proposed method allows intensifying the process of inulin production from the roots of elecampane and reducing the time spent on it to 6–7 hours, as well as increasing the product yield to $20.63 \pm 0.36\%$ in terms of absolutely dry raw materials. The procedure can be used for express analysis of the quality of the roots of elecampane, as well as for industrial production of inulin from this kind of raw material.*

Keywords: inulin, water-soluble polysaccharides, ultrasound, elecampane (*Inula helenium* L.)