

**ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНКУРС
ДОСТИЖЕНИЙ ТАЛАНТЛИВОЙ МОЛОДЁЖИ
«НАЦИОНАЛЬНОЕ ДОСТОЯНИЕ РОССИИ»**

Направление. Химия

**Тема. Методика компаративной оценки растительных БАД
(На примере зверобоя)**

Соискатель: *Кошелев Петр Алексеевич*, студент, направление подготовки 04.03.01 «Химия», профиль «Аналитическая химия и химическая экспертиза». Институт естествознания.

Научный руководитель: *Ларионов Евгений Александрович*, кандидат химических наук, доцент кафедры химии Института естествознания

Место выполнения работы: Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского

Содержание

	Стр.
Введение	2
1. Экспериментальная методика	3
1.1. Целеполагание	3
1.2. Понятийный аппарат	3
1.3. Характеристика изучаемого сырья	3
1.3.1. Сведения об объектах исследования	3
1.3.2. Характеристика зверобоя как лекарственного растения.	5
1.4. Изучение официально утвержденных методов исследования зверобоя как сырья.	5
1.5. Описание системы лабораторного оборудования и приборов, позволяющих проводить компаративный анализ.	6
1.6. Использование функционала системы лабораторного оборудования для компаративного анализа БАД.	10
1.7. Алгоритм экспериментальной методики	10
2. Реализация экспериментальной методики	10
2.1. Получение этанольных экстрактов объектов исследования. Оценка цвета получаемых экстрактов из объектов растительного происхождения как критерия при проведении сравнительных исследований.	10
2.2. Проведение сравнительного исследования методом тонкослойной хроматографии путем сравнения хроматографических профилей многокомпонентных объектов с использованием элюентов с различной полярностью.	12
2.3. Сравнительное исследование методом электронной спектроскопии (в УФ/ВИД диапазоне).	17
2.4. Применение фармакопейного спектрофотометрического метода для получения данных о содержании фенольных соединений в пересчете на рутин в объектах исследования и образце сравнения.	20
2.5. Сравнительное исследование количества флавоноидов поступающих в организм человека из исследуемых объектов при приеме согласно способам применения и дозам, указанным на упаковках.	23
2.6. Обработка и анализ результатов компаративного анализа исследуемых БАДов для каждого из исследуемых объектов путем сопоставления результатов проведенных исследований.	25
ВЫВОДЫ, ПРЕДЛОЖЕНИЯ	28
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	29

Доктором Стивеном де Фелис, американским врачом, основателем Фонда инноваций в медицине (FIM), в 1989 году был введен термин «*nutraceuticals*»¹, обозначающий продукты питания, содержащие полезные для здоровья вещества, находящиеся между пищевыми добавками и лекарствами. В США такие продукты получили название «*food supplements*»².

В России 1996 г. академик В.А. Тутельян вместо названия «*food supplements*» ввел новый термин – «*биологически активные добавки к пище*», что позволило четко разграничить на российском рынке две совершенно разные по назначению и применению группы продукции: пищевые добавки и биологически активные добавки к пище.³

*В последние два десятилетия можно наблюдать значительный рост производства и реализации населению биологически активных добавок (БАД) к пище. Так на фармацевтический рынок в России ежегодно выходит около 500–600 новых добавок.*⁴ На территории Российской Федерации в отношении биологически активных добавок к пище действует то же законодательство, что и в отношении пищевой продукции.

В отличие от лекарственных средств БАД не проходят обязательных клинических испытаний, а главным критерием при контроле качества и безопасности такой продукции является отсутствие в ее составе ядовитых, сильнодействующих и психотропных веществ.

В последнее время в законодательстве произошли изменения, касающиеся применения биологически активных добавок в медицинских целях. Так, например, согласно статье 25.7 Федерального закона № 29-ФЗ от 2.01.2000 г. «О качестве и безопасности пищевых продуктов»:

«Медицинские работники в порядке, установленном федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим функции по выработке и реализации государственной политики и нормативно-правовому регулированию в сфере здравоохранения, по согласованию с федеральным органом исполнительной власти, уполномоченным на разработку и утверждение государственных санитарно-эпидемиологических правил и гигиенических нормативов, вправе назначать зарегистрированные биологически активные добавки, включенные в перечень биологически активных добавок, при наличии показаний к их применению».

*«Правительство Российской Федерации вправе устанавливать особенности регулирования применения биологически активных добавок, а также особенности регистрации биологически активных добавок в целях установления упрощенного порядка передачи (в том числе в электронной форме) в федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий государственную регистрацию биологически активных добавок, результатов исследований (испытаний) образцов биологически активных добавок, проведенных в расположенных на территории Российской Федерации аккредитованных испытательных лабораториях (центрах), и иных документов, подтверждающих соответствие биологически активных добавок предъявляемым к ним требованиям технических регламентов Евразийского экономического союза».*⁵

Суть данной работы – основа методических рекомендаций для проведения сравнительных исследований в рамках экспертизы биологически активных добавок, созданных на основе лекарственных растений, используемых в медицине с доказанными медицинскими свойствами.

¹ [англ. nutraceuticals нутрицевтики]

² [англ. food supplements пищевые добавки]

³ Петренко А.С. Суханов Б. П. Практика использования биологически активных добавок к пище в зарубежных странах (на примере США). //Вопросы питания: научно-практический журнал. 2011 г. №1

⁴ Лепешкина И.И. Регистрация БАД. БАДы в России и на фармацевтическом рынке, проблема фальсификации БАДов. //Электронный научный журнал. 2015 г. № 1(1). С. 61.

⁵ ФЗ от 02.01.2000 № 29-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов» (последняя редакция). С. 20.

I. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕТОДИКА

Объект. Биологически активные добавки на основе зверобоя, реализуемые населению в свободной продаже.

Предмет. Физико-химические характеристики БАД, полученные с использованием химических и инструментальных методов и позволяющие проводить сравнительные исследования, выявлять вещества, не заявленные производителем в составе БАД, выявлять некачественные добавки.

Цель. Разработка основ методических рекомендаций по проведению компаративного анализа для БАД растительного происхождения, с использованием различного инструментария позволяющего производить оценку исследуемых БАД. (на примере БАД, изготовленных на основе зверобоя).

1.2. Понятийный аппарат

Определение. Биологически активными добавками к пище (БАД) называются природные и (или) идентичные природным биологически активные вещества, а также пробиотические микроорганизмы, предназначенные для употребления одновременно с пищей или введения в состав пищевой продукции.⁶

1.3. Характеристика изучаемого сырья

Зверобоя экстракт сухой зарегистрирован в реестре лекарственных средств Российской Федерации под номером регистрационного удостоверения ФС-000196 как фармацевтическая субстанция.

1.3.1. Сведения об объектах исследования.

В настоящей работе проведено комплексное сравнительное исследование травы зверобоя, приобретенной в аптеке (объект №1, принят как образец сравнения), с травой зверобоя (объект №2), пятью препаратами в капсулах (объекты №3–7) и препаратом в виде таблеток объект №8), приобретенными на маркетплейсе.












Производители препаратов в капсулах на этикетках упаковок указывают, что содержимым капсул являются экстракты зверобоя (без указания используемого экстрагента).


Таблица 1.

Сведения об составе объектов исследования, представленные производителем на упаковках и внешний вид объектов исследования

Объект	Заявленный состав	Внешний вид формы	Внешний вид сухого вещества
№1 Зверобоя трава образец сравнения	Зверобоя трава		

⁶ Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011). (Электронный ресурс). С. 6.

Объект	Заявленный состав	Внешний вид формы	Внешний вид сухого вещества
№2 Зверобоя трава	Зверобоя трава	(без фильтр-пакета)	
№3 БАД Капсулы	Экстракт зверобоя, мальтодекстрин		
№4 БАД Капсулы	Экстракт зверобоя, МКЦ		
№5 БАД Капсулы	Зверобой		
№6 БАД Капсулы	Экстракт зверобоя, гипромеллоза		
№7 БАД Капсулы	100% водорастворимый экстракт травы зверобоя		

Объект	Заявленный состав	Внешний вид формы	Внешний вид сухого вещества
№8 БАД Таблетки	МКЦ, 60 мг сухого экстракта, лактоза, аскорбиновая кислота, тальк E553, кальция стеарат.		

Для проведения исследования выбраны биологически активные добавки, изготовленные на основе зверобоя, объекты №2–№8. Несмотря на то что исследуемые БАД по внешнему виду напоминают лекарства и реализуются в виде лекарственных форм, таких как таблетки и капсулы, как упоминалось ранее они не являются лекарственными средствами, поэтому понятие «лекарственная форма» в данном случае применяется с целью охарактеризовать внешний вид объекта, формально описать его. Как видно из таблицы 1, для каждого объекта характерны свои отличительные особенности, внешний вид, состав, обусловленные технологическим процессом его получения.

Поскольку исследуемые БАД, изготовлены на основе зверобоя или его экстракта, в рамках компаративного анализа сам зверобой должен служить в качестве образца сравнения. В нашем случае в качестве такого выбран объект, не являющийся биологически активной добавкой и являющийся официально зарегистрированным лекарственным средством, представляющим собой высушенную и измельченную зверобоя траву приобретенную в аптеке. (Объект №1).

1.3.2 Характеристика зверобоя как лекарственного растения.

*Зверобой, продырявленный древнейшее и до настоящего времени широко применяемое в народной и научной медицине многолетнее травянистое растение. Лекарственным сырьем зверобоя продырявленного служат облиственные верхушки побегов длиной 25–30 см, собранные в фазу цветения.*⁷

*Богатый химический состав зверобоя является основой его лечебного воздействия на организм животного и человека. Это лекарственное растение обладает многогранным действием: противовоспалительным, антимикробным, антидепрессивным, кровоостанавливающим, противовирусным, антиоксидантным и др. Противовоспалительный эффект зверобоя обеспечивается присутствием дубильных веществ и флавоноидов. В этом качестве отвары и настои применяются как внутрь, так и наружно. Фитопрепарат снижает интенсивность колитов, уменьшает проявления синдрома раздражённой кишки.*⁸

1.4. Изучение официально утвержденных методов исследования зверобоя как сырья.

В официальных документах, таких как Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания, описаны испытания и условия их проведения необходимые для оценки подлинности и качества собранной в фазу цветения и высушенной травы зверобоя продырявленного и зверобоя пятнистого.⁹ Испытания проводятся для установления соответствия требованиям, установленным

⁷ Эчишвили Э.Э., Портнягина Н.В. Сырьевая продукция *hypericum perforatum* L разного географического происхождения в условиях интродукции. //Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2021 г. №139. С. 117.

⁸ Постраш И.Ю. Трава зверобоя продырявленного: химический состав, свойства, применение. //Вестник АПК Верхневолжья. Научный журнал - 2021 г. №1(53). С. 58

⁹ Зверобоя трава. ФС 2.5.0015.15. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 4-х томах. Т.IV. – М.: Минздрав России, 2018. – С. 6074

нормативными документами. Такими испытаниями являются: внешние, микроскопические признаки, влажность, зола общая, зола нерастворимая в хлористоводородной кислоте, измельченность сырья, посторонние примеси, пестициды, микробиологическая чистота сырья, а также определение содержания основных групп биологически активных веществ, такие как: определение содержания флавоноидов фотометрическим методом и методом тонкослойной хроматографии, дубильных веществ при помощи качественных реакций и других методов.

Некоторые из этих испытаний мы использовали для проведения компаративного анализа исследуемых БАД, изготовленных из зверобоя. Такими испытаниями, например являлись: количественное определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье спектрофотометрическим методом, тонкослойная хроматография в элюенте состава этилацетат – муравьиная кислота – вода 85:10:5. Помимо описанных, нами были осуществлены: регистрация спектров поглощения в видимой и УФ области для экстракта зверобоя и объектов исследования в 96% этаноле и их сравнительная оценка, тонкослойная хроматография в элюентах состава бензол – этанол – триэтиламин 5:5:1 и бензол – этанол – триэтиламин 8:2:1

1.5. Описание системы лабораторного оборудования и приборов, позволяющих проводить компаративный анализ.

*Тонкослойная хроматография (ТСХ) способ хроматографии, в котором процессы разделения смеси веществ осуществляются в тонких слоях сорбента (нанесенного на инертную твердую подложку) или в пленках пористого полимерного материала.*¹⁰

*ТСХ используется для исследования как однокомпонентных, так и многокомпонентных лекарственных средств при испытаниях на подлинность (идентификация анализируемых веществ), родственные примеси (испытание на чистоту) полуколичественным и количественным методами, а также иногда для количественного определения анализируемых веществ.*¹¹

Для проведения исследования методом тонкослойной хроматографии применялись: **пластинки для тонкослойной хроматографии марки Sorbfil ПТСХ – АФ-В (10×10) (Рис. 1).**

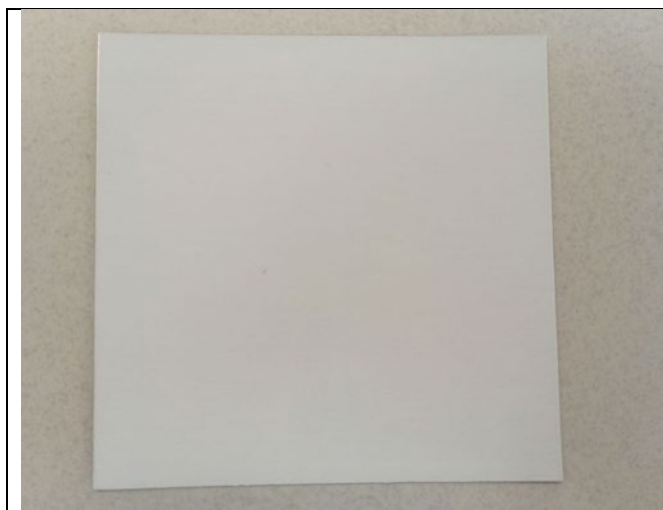


Рис. 1 Вид пластинки для тонкослойной хроматографии Sorbfil ПТСХ – АФ-В (10×10)

Пластинки для тонкослойной хроматографии представляют собой прямоугольные листы алюминиевой фольги, покрытые слоем порошка фракционированного силикагеля, закрепленного связующим составом. Технические характеристики использованных пластин приведены в таблице 2.

Таблица 2

Параметр	Значение
Тип сорбента	силикагель
Тип связующего	силиказоль
Тип пластин	высокоэффективные
Тип подложки	алюминий
Зернение, мкм	8–12
Толщина слоя, мкм	80–100
Наличие УФ индикатора	нет
Размер пластин, мм	100×100

¹⁰ Даванков В.А., Онучук Л.А. Хроматография. Основные понятия. Терминология. Словарь. – Самара: Самарский университет, 2022. С. 13.

¹¹ Тонкослойная хроматография ОФС.1.2.1.2.0003. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 2-х томах. Т.1. – М.: Минздрав России, 2023. С. 1374.

Назначение: пластины Sorbfil предназначены для анализа всех классов растворимых химических соединений и их смесей методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Используются для научных исследований и типовых анализов в органической и неорганической химии, медицине, криминалистике, сельском хозяйстве, на предприятиях фармацевтической, полимерной, микробиологической, пищевой промышленности и в других отраслях науки и производства.

Камера для тонкослойной хроматографии.

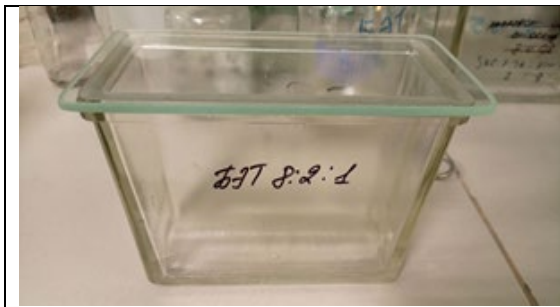


Рис. 2 Вид камеры для тонкослойной хроматографии с продольным выступом на дне.

Камера для тонкослойной хроматографии (ТСХ) является стеклянной емкостью прямоугольной формы с притертой плоской крышкой, где в насыщенных парах растворителя происходит элюирование (разделение проб) хроматограмм на тонком слое сорбента, нанесенном на пластинки из алюминия, пластика или стекла.

Термостоллик ТСХ



Рис. 3. Вид термостоллика для тонкослойной хроматографии

Термостоллик ТСХ предназначен для подогрева пластинок со слоем сорбента при нанесении проб, чтобы обеспечить малый размер стартовой зоны вещества. Это способствует лучшей воспроизводимости результатов хроматографии, уменьшению краевых эффектов и разрешающей способности при разделении фракций пробы.

УФ-аналитический кабинет УФК-HD (Petrolaser)

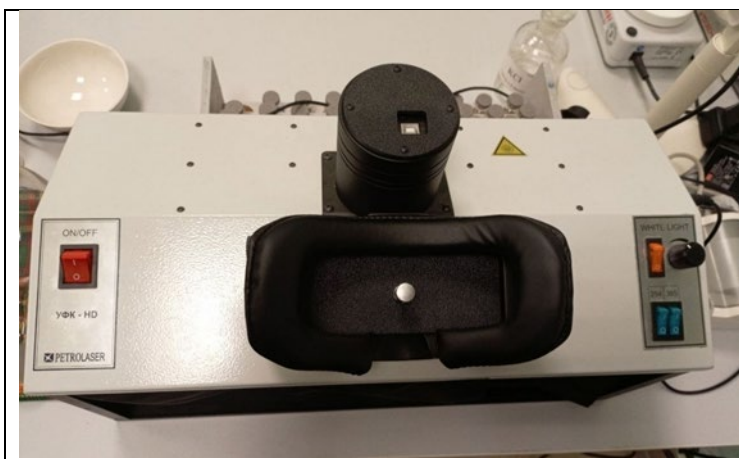


Рис.4. Вид УФ-аналитического кабинета УФК-HD (Petrolaser)

УФ-аналитический кабинет УФК-HD (Petrolaser) используется для создания затемненной зоны («table-top dark room» — настольной темной комнаты) при ультрафиолетовом анализе и исследованиях различных люминесцирующих объектов, таких, как пластины ТСХ при хроматографическом исследовании в криминалистических и других исследовательских лабораториях.

Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ.



Рис. 5. Вид спектрофотометра ПЭ-5300ВИ

Назначение: спектрофотометр ПЭ-5300ВИ предназначен для измерения коэффициента пропускания и оптической плотности жидкостей с целью определения концентраций растворенных в них компонентов, а также для измерения коэффициента пропускания и оптической плотности твердых и жидких проб различного происхождения

Таблица 3

Характеристики спектрофотометра ПЭ-5300ВИ

Параметр	Значение
Спектральный диапазон (нм)	325-1000
Диапазон измерений спектральных коэффициентов направленного пропускания (%Т)	0,0-100,0
Диапазон показаний спектральных коэффициентов направленного пропускания (%Т)	0,0-200,0
Диапазон измерений оптической плотности (Б)	3,000-0,000
Диапазон показаний оптической плотности (Б)	3,000 до -0,300
Пределы допускаемой абсолютной погрешности при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания (%Т)	±0,5
Пересчет погрешности при измерении оптической плотности	$\Delta A = 0,43 \cdot \Delta T \cdot 10^{-2}$
Выделяемый спектральный интервал (нм)	4
Уровень рассеянного света	$\leq 0,3\%T$ на 340 нм
Оптическая схема	однолучевая
Габаритные параметры	440×320×175

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра – это метод молекулярной абсорбционной спектроскопии, основанный на измерениях и изучении спектров поглощения электромагнитного излучения молекулами в оптической области. Измерения обычно проводят в ближней ультрафиолетовой области (диапазон волн приблизительно 190–400 нм) и видимой области (диапазон волн приблизительно 750–780 нм).

Метод спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра предназначен для количественного и качественного анализа лекарственных средств, вспомогательных веществ, упаковочных и других материалов, используемых в фармацевтической практике, при этом испытуемые образцы могут находиться в жидком, твёрдом или газообразном состоянии.¹²

Perkin Elmer UV/VIS spectrometer Lambda 35



Рис. 6. Вид спектрометра

Таблица 4.

Общие характеристики спектрометра Perkin Elmer UV/VIS Lambda 35

Тип	Сканирующий двухлучевой спектрометр для УФ/Вид. диапазона; управляемый ПК
Размеры	Ширина: 650 мм. Высота: 260 мм. Толщина: 560 мм
Масса	Около 26 кг
Электрическое питание	100–240 в; 50/60 Гц; 250 вт
Рабочая температура	15–35°C

¹² Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях. ОФС.1.2.1.1.0003. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 2-х томах. Т.1. – М.: Минздрав России, 2023. – С. 1167.

Perkin Elmer UV/VIS Lambda 35 Назначение: Спектрофотометр Lambda 35, предназначен для измерения спектральных коэффициентов направленного пропускания и оптической плотности растворов и твердых образцов в диапазоне волн от 200 до 1100 нм.		Влажность среды	Относительная влажность 20–80 % без конденсации
		Технический стандарт	Соответствует требованиям для технических приборов, заданных IEC 61010-1:1990 и изменениями A1:1992 и A2:1995.
		Подавление радиопомех	Соответствует требованиям директивы по электромагнитной совместимости 89.336/ЕЕС (EN 61326)
Оптика		Абсцисса	
Высота центра луча	15 мм выше основания держателя ячейки	Диапазон длины волны	190–1100 нм; 0 нм при трассировке
Поперечное сечение луча	0.5 нм щель приблизительно 0.25 мм x 7 мм (ширина x высота)	Точность установки длины волны	±0.1 нм
	1 нм щель приблизительно 0.5 мм x 7.5 мм (ширина x высота)	Воспроизводимость длины волны	±0.1 нм
	2 нм щель приблизительно 1 мм x 7.5 мм (ширина x высота)		
	4 нм щель приблизительно 2 мм x 7.5 мм (ширина x высота), в точке фокуса на образце в кюветном отделении	Спектральная ширина	0.5 нм, 1 нм, 2 нм, 4 нм (зависит от размеров щели)
Оптический путь в кюветном отделении	121 мм	Смена ламп	Автоматическая на волне 326 нм (выбираемое программно во всём диапазоне длин волны)
Решётка (монохроматор)	Голографическая вогнутая решетка с 1053 линиями/мм в центре	Скорость сканирования	7.5, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 960, 1920 и 2880 нм/мин
Источник излучения	Дейтериевая и галогеновая лампы		
Датчик	Фотодиоды (Один для луча образца сравнения и один для луча исследуемого образца)		

Ордината

Фотометрический диапазон	Пропускание 0–100 % Поглощение света от -6.000 до 6.000 (диапазон отображается) От 1 до 9999 (единицы концентрации)
Фотометрическая точность	Поглощение света ±0.003 (измеренное при мере поглощения света = 1 на 440 нм, 546.1 нм и 635 нм с фильтром NIST 930) Поглощение света ±0.015 (измеренное при мере поглощения света = 1 на 257 нм и 350 нм с раствором двуххромовокислого калия *)
Рассеянное излучение	Пропускание <0.02 % (на 220 нм, 340 нм и 370 нм) Поглощение света > 2 (измеренное на 200 нм с раствором хлористого калия в сравнении с дистиллированной водой)
Линейность базовой линии	2 нм щель: поглощение света ±0.0005 (коррекция: в пределах 200–1100 нм, при скорости сканирования 240 нм/мин, степень сглаживания 2)
Шум базовой линии	2 нм щель: поглощение света <0.00006 СКО, поглощение света <0.0002 максимальной амплитуды пиков (съёмка в течение 3 мин при поглощении света = 0, длине волны 500 нм и времени реакции 2 с)
Стабильность базовой линии (дрейф)	Поглощение света <0.0003 в час (500 нм, после прогрева)

Вывод данных

Цифровой порт	Один интерфейс RS 232C для соединения с ПК
---------------	--

1.6. Использование функционала системы лабораторного оборудования для компаративного анализа БАД.

Компаративный анализ предполагает проведение комплексного сравнительного исследования с использованием описанных методов с целью выявления признаков эталона, и динамики их изменения у других объектов. Для этого необходимо осуществить комплексное сравнительное исследования химическими и физико–химическими методами объектов и образца сравнения в сходных условиях.

Метод тонкослойной хроматографии позволяет получить хроматографический профиль, являющийся совокупностью всех зон адсорбции, наблюдаемых после хроматографирования. Зоны адсорбции характеризуются цветом флуоресценции в УФ лучах (365 нм) и коэффициентом удержания и соответствуют тому или иному компоненту в составе исследуемого объекта. Полученный профиль исследуемого объекта сравнивали с профилем эталонного объекта.

В рамках проводимого исследования метод электронной спектроскопии в видимой и УФ области применялся для количественного анализа веществ содержащихся в составе исследуемых объектов, где обработка полученных данных заключается в определении регрессионной зависимости фотометрических показаний прибора (оптической плотности) от концентрации стандартных образцов. Помимо этого, метод применялся для сравнительного анализа путем регистрации спектров поглощения исследуемых объектов, с целью их последующего сравнения со спектром эталона.

1.7. Алгоритм экспериментальной методики

1. Получение этанольных экстрактов объектов исследования. Оценка цвета получаемых экстрактов из объектов растительного происхождения как критерия при проведении сравнительных исследований.

2. Проведение сравнительного исследования методом тонкослойной хроматографии путем сравнения хроматографических профилей многокомпонентных объектов с использованием элюентов различного состава.

3. Сравнительное исследование методом электронной спектроскопии (в УФ/ВИД диапазоне).

4. Применение фармакопейного спектрофотометрического метода для получения данных о содержании фенольных соединений в пересчете на рутин в объектах исследования и образце сравнения.

5. Сравнительное исследование количества флавоноидов поступающих в организм человека из исследуемых объектов при приеме согласно способам применения и дозам, указанным на упаковках.

6. Обработка и анализ результатов компаративного анализа исследуемых БАДов для каждого из исследуемых объектов путем сопоставления результатов проведенных исследований.

II РЕАЛИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕТОДИКИ

2.1. Получение этанольных экстрактов объектов и сравнение их цветовых характеристик.

Несмотря на то, что производителями описанных выше БАДов заявлено, что перечисленные объекты в своем составе имеют экстракт, нами был реализован подход, предполагающий изначально неизвестную природу происхождения исследуемых объектов. Так как для исследователя неизвестно, каким способом получали экстракт, с помощью каких растворителей, какие температурные режимы применялись и т. д. Такой подход оправдывает себя несмотря на то,

что мы фактически получали экстракт этанолом из вещества неизвестного происхождения, заявленного производителем как экстракт (в большинстве случаев).

Цель эксперимента.

Получить экстракты объектов для проведения дальнейших сравнительных исследований, при одинаковых условиях экстрагирования. Сравнить их цветовые характеристики.

Задачи эксперимента и порядок их выполнения.

1. Подготовить оборудование.
2. Подготовить реактив.
3. Извлечь сухое вещество из форм исследуемых объектов.
4. Провести экстракцию сухого вещества объектов сравнения.
5. Сравнить цветовые характеристики этанольных экстрактов объектов.

Оборудование и посуда. Весы лабораторные технические ВМ512, стаканчики стеклянные лабораторные 25 мл, колбы конические плоскодонные объемом 100 мл, градуированные пипетки на полный слив объемом 10 мл, водяная баня, пробки резиновые с обратными холодильниками, штатив металлический, зажим, кольца для штатива, стеклянные воронки на 75 мл, бумажные фильтры марки белая лента, пенициллиновые флаконы, сито металлическое с диаметром пор 1 мм, ступки фарфоровые с пестиком.

Реактивы. Этиловый спирт – 96%.

Выполнение эксперимента

Подготовка оборудования. Провели калибровку весов, водяную баню наполнили дистиллированной водой и установили температурный режим 70 °С.

Подготовка реактива. Концентрацию этилового спирта уточнили при помощи спиртометра, она составляет 96%.

Извлечение сухого вещества. Объекты исследования №3, №4, №5, представляют собой биологически активные добавки на основе зверобоя, помещенные в желатиновые капсулы. Внутри оболочки находится сухое вещество, которое, согласно надписи на упаковках, содержит экстракт зверобоя, а также различные добавки служащие матрицей, например: мальтодекстрин у объекта №3, и МКЦ – микрокристаллическая целлюлоза у объекта №4. Для извлечения сухого вещества достаточно раскрыть капсулу, и высыпать из нее сухое вещество в химическую посуду.

Полученное сухое вещество из разных объектов исследования обладает общими чертами, оно имеет коричневый цвет различных оттенков, более светлый для объекта №4, и более темный для объекта №5. В отличие от объектов №3 и №5, сухое вещество объекта №4 слипается в комки, которые образовались еще внутри капсулы. Полученные сухие вещества в дальнейшем подвергаются экстракции этанолом.

Приготовление этанольных экстрактов объектов сравнения. Для выделения биологически активных веществ применяется метод экстракции. Для приготовления этанольных экстрактов объектов были использованы по 1 г сухого вещества зверобоя (объект №1, №2), а также по 1 г сухого вещества содержимого капсул исследуемых БАД (объект №3, №4, №5, №6, №7,). Взвешенные на весах по 1 г сухого вещества объектов исследования, проходящие через поры сита диаметром 1 мм, поместили в колбы плоскодонные объемом 100 мл. Используя пипетки, градуированные на объем 10 мл добавили в эти колбы по 10 мл спирта этилового – 96%. Колбы закрыли пробкой с обратным холодильником и поместили в водяную баню, нагретую до 70°С на 15 минут. После этого содержимое колб подвергли фильтрованию через бумажные фильтры белая лента. Полученные после фильтрования этанольные экстракты объектов использовались в дальнейшем для исследования методами видимой, УФ спектроскопии и тонкослойной хроматографии.

Сравнение цветовых характеристик этанольных экстрактов объектов. Оценку цвета экстрактов проводили визуально, сравнивая их окраску при дневном и искусственном освещении. При одинаковых условиях экстрагирования цвет экстрактов будет определяться совокупностью веществ, составляющих экстракт и их количественным содержанием. Этанольный экстракт объекта №1 (образец сравнения), обладает красной окраской. Этанольный экстракт объекта №2 обладает красной окраской. Объект №3, обладает интенсивной зеленой окраской, крайне выделяющейся на фоне окрасок остальных экстрактов. Такое резкое отличие свидетельствует о том, что этот экстракт содержит в своем составе вещество, которое отсутствует в остальных экстрактах. Объект №4 обладает наименее интенсивной окраской по сравнению с остальными объектами, что свидетельствует о наименьшем содержании экстрактивных веществ. Объекты №5, №6 обладает наиболее интенсивной вишнево-красной окраской, которая свидетельствует о наибольшей концентрации экстрактивных веществ. Объект №7 обладает оранжево-красной окраской, объект №8 обладает коричневой окраской.

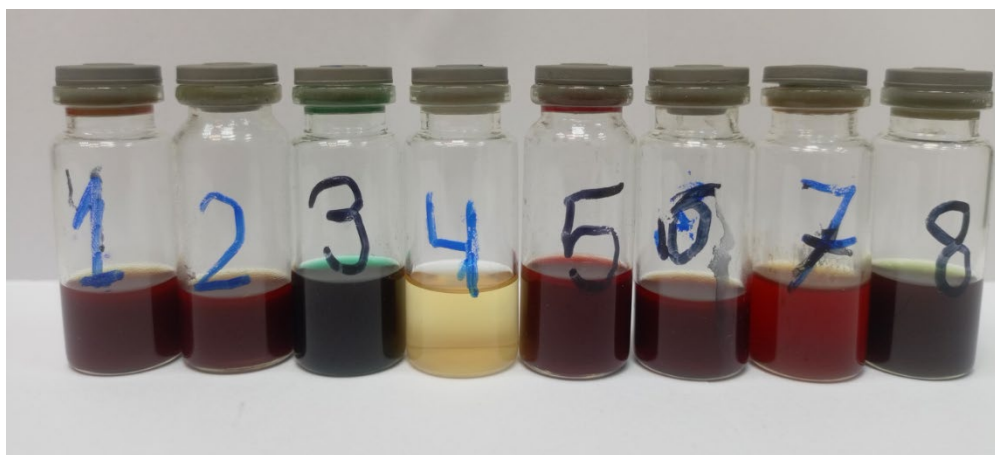


Рис. 7. Вид этанольных экстрактов объектов сравнения.

Вывод по результатам оценки цветовых характеристик экстрактов. Получаемые методом экстракции этанолом, экстракты объектов исследования обладают различными цветовыми характеристиками, на основании которых нельзя сделать определенные выводы о качественном и количественном составе экстракта. Различия в интенсивности окраски могут свидетельствовать о разном содержании экстрактивных веществ, а значительные различия в окраске свидетельствуют о различии качественного состава экстракта. Более точные данные о качественном и количественном составе экстрактов должны быть получены в совокупности с использованием других методов.

2.2 Сравнительное исследование этанольных экстрактов объектов методом тонкослойной хроматографии.

Цель эксперимента.

1. Получить хроматографические профили объектов в разных элюирующих системах;
2. Сравнить хроматографические профили объектов №2, №3, №4, №5, №6, №7, №8. с профилем образца сравнения (объект №1).

Гипотеза. Полученные хроматографические профили объектов в различных системах будут характеризовать объект с точки зрения его качественного состава. Если объекты имеют схожий состав, то и их хроматографические профили будут сходны по цвету и подвижности зон адсорбции, при этом наиболее полная характеристика объекта будет получена при проведении серии экспериментов с использованием различных элюентов.

Задачи эксперимента и порядок их выполнения.

1. Подобрать оптимальные условия для элюирования, элюент и способ нанесения объекта.
2. Подготовить хроматографическую камеру
3. Провести хроматографирование.
4. Осмотреть хроматографические пластинки с разделенными компонентами в видимом свете и в УФ лучах (365 нм), проявить пластинки в парах иода.
5. Провести анализ полученных хроматографических профилей объектов исследования.

Оборудование и посуда. Стеклянная камера для хроматографии с притертой крышкой, хроматографические пластины Sorbfil ПТСХ – АФ – В 10x10 см, термостоллик ТСХ, УФ-аналитический кабинет УФК-НД (Петролазер).

Реактивы. Бензол ХЧ «РМ Инжиниринг», триэтиламин Ч «Компонент-реактив», этилацетат ХЧ, муравьиная кислота «Ленреактив», рутин РМ Инжиниринг по ТУ 6-09-10-498--76.

Выполнение эксперимента.

Подбор элюента. Для проведения исследования были применены три элюирующие системы состава: Этилацетат – Муравьиная кислота – Вода (85:10:5). (В дальнейшем система А); Бензол – Этанол – Триэтиламин (5:5:1), (в дальнейшем система В) и Бензол – Этанол – Триэтиламин (8:2:1) (в дальнейшем система С). Эти элюирующие системы позволяют характеризовать исследуемые объекты, поскольку они обеспечивают получение хроматографических профилей, позволяющих сравнивать исследуемые объекты.

Так, например, элюирующая система №1 наиболее полярна из применяемых систем, компоненты исследуемых объектов с большей полярностью будут выходить из стартовой зоны быстрее чем с меньшей полярностью, и наоборот, в менее полярных системах №2 и №3, вещества обладающие приближенной к ним полярностью будут выходить из стартовой зоны быстрее чем вещества с большей полярностью. Таким образом профилирование будет охватывать большее число компонентов чем при применении всего лишь одной системы.

Подготовка хроматографической камеры. В две камеры для хроматографии поместили приготовленные элюенты на уровень 3 мм от дна камеры. Оставили камеры закрытыми притертой крышкой на 1,5 часа чтобы обеспечить их насыщением парами элюента.

Подготовка пластины. Мягким карандашом отметили линию старта на расстоянии 1,5 см от края пластины. Нанесли стартовые пятна этанольных экстрактов объектов исследования и образца сравнения держа пластины на термостоллике с установленным температурным режимом 45°C для подсушивания наносимых пятен.

Подбор способа нанесения экстрактов объектов исследования на пластинку. С целью получения наиболее качественного разделения, необходим контроль концентрации наносимых на пластинку веществ. При хроматографическом разделении происходят различные процессы, которые могут повлиять на разделение и форму зон адсорбции. В нашем случае оптимальным является то нанесение, которое позволяет наблюдать наибольшее количество зон адсорбции для объектов. Поэтому необходимо для каждой элюирующей системы подобрать оптимальный способ нанесения экстрактов объектов.

Итак, подбор оптимального способа нанесения для элюента А осуществляли следующим образом: на хроматографическую пластину наносили этанольный экстракт объекта образца сравнения. Нами было опробовано несколько способов нанесения. Наиболее полно разделение объекта №1 образца сравнения происходило при нанесении 5 мкл экстракта на стартовую зону в форме полоски длиной 1 см.

Для подбора оптимального нанесения для элюента В на хроматографическую пластину нанесли несколько стартовых зон объекта №1 (образца сравнения) в форме круглого пятна

диаметром 3 мм с нанесением 5 мкл, 10 мкл и 15 мкл экстракта, и в форме полоски длиной 1 см, с нанесением 5 мкл и 10 мкл экстракта. Наибольшее число зон адсорбции наблюдается при нанесении экстракта полоской 5 мкл экстракта.

Для подбора оптимального нанесения в элюирующей системе С, на хроматографическую пластину нанесли несколько стартовых зон объекта №1 образца сравнения с нанесением в форме круглого пятна диаметром 3 мм и количеством 5 мкл, 10 мкл, 15 мкл и 20 мкл. Наибольшее число зон адсорбции наблюдается при нанесении экстракта в количестве 15 мкл.

Хроматографирование Пластинки с нанесенными стартовыми пятнами объектов исследования поместили в камеры таким образом, чтобы элюент не соприкасался со стартовыми пятнами объектов. Закрыли крышку и держали пластинки до прохождения фронта элюента до линии финиша. По достижении элюентом линии финиша вынули пластинки и оставили на просушку в вытяжном шкафу при комнатной температуре.

Осмотр хроматографической пластинки в УФ лучах 365 нм. Просушенные в течение 2-х минут пластинки осматривали в УФ-лучах с длиной волны 365 нм. Наблюдали флюоресцирующие в УФ лучах зоны адсорбции. Зафиксировали профили объектов с помощью фотокамеры. Результаты приведены на рисунках 8, 9 и 10. В результате предварительных испытаний нами было выяснено что хроматографический профиль объекта №2 практически идентичен профилю образца сравнения в элюирующих системах А, В, поэтому отсутствует на хроматографических пластинках, показанных на рис. 8, рис. 9, рис. 11.

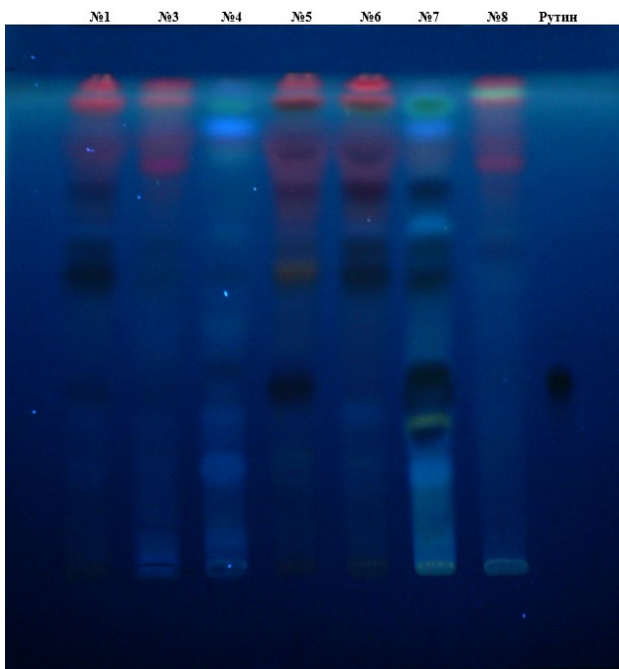


Рис. 8. Слева направо: хроматографические профили этанольных экстрактов объектов №1, №3, №4, №5, №6, №7, №8 и раствора рутина в элюирующей системе А, в УФ лучах 365 нм.

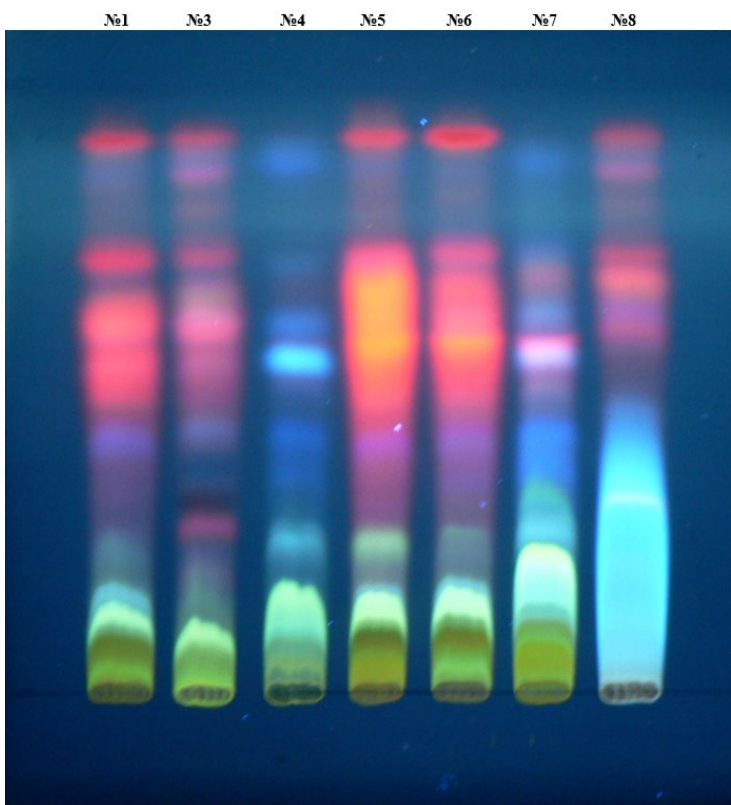


Рис. 9. Слева направо: хроматографические профили этанольных экстрактов объектов №1, №3, №4, №5, №6, №7 и №8 в элюирующей системе В, в УФ лучах 365 нм.

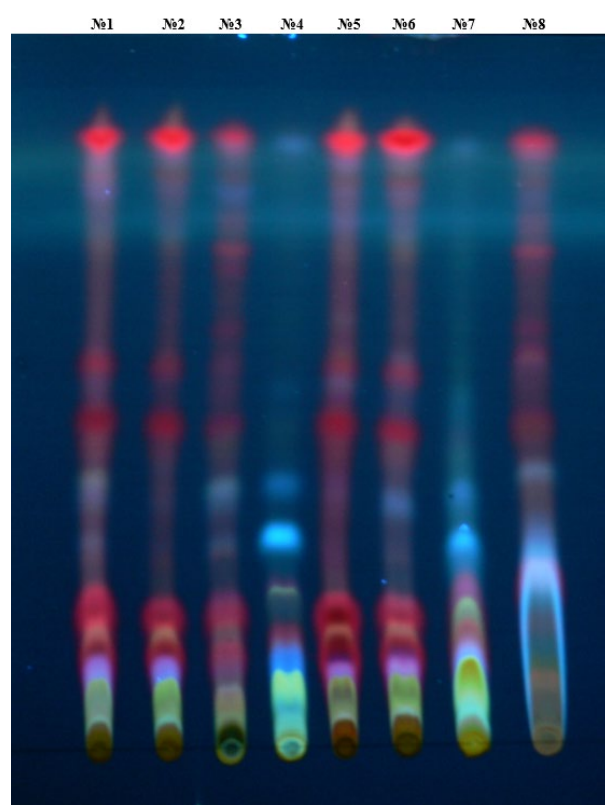


Рис. 10. Слева направо: хроматографические профили этанольных экстрактов объектов №1, №2, №3, №4, №5, №6, №7, №8 в элюирующей системе С, в УФ лучах 365 нм.

Проявление хроматографической пластины в парах иода. Просушенную хроматографическую пластинку, полученную в хроматографической системе №1 (А), проявили в парах иода. Для этого поместили пластинку в эксикатор, наполненный парами иода на 40 минут. В результате проявления зоны адсорбции приобретают коричневую окраску и становятся наблюдаемы в видимом свете. Хроматографические профили объектов фиксируем на сканере.

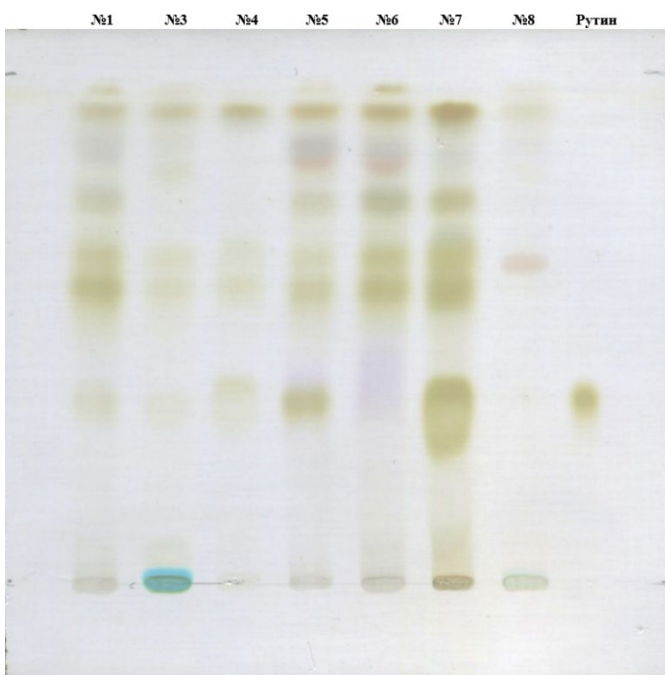


Рис. 11. Слева направо: хроматографические профили этанольных экстрактов объектов №1, №3, №4, №5, №6, №7, №8 и раствора рутин в элюирующей системе А, после проявления в парах иода.

Обработка результатов. Наличие зон адсорбции, обладающих одинаковой окраской или флуоресценцией и подвижностью свидетельствует о наличии в составе объектов сходных компонентов. Наиболее сходный по составу объект содержит в профиле наибольшее число зон адсорбции характерных для образца сравнения, и наименьшее число зон для образца не характерных.

Таблица 5.

Значение коэффициента удержания R_f зон адсорбции этанольных экстрактов объектов в элюирующей системе А, в УФ лучах 365 нм

R_f	Объекты исследования						
	Эталон	3	4	5	6	7	8
0,97	+	+		+	+		+
0,95							+
0,94	+	+		+	+		+
0,93			+				
0,88			+			+	
0,85	+	+		+	+	+	+
0,83			+	+	+		
0,81		+		+	+		+
0,76	+			+	+	+	
0,69			+			+	
0,64	+	+	+	+	+	+	+
0,58	+	+	+	+	+	+	
0,40			+			+	
0,37 Рутин	+	+		+		+	
0,30	+	+	+		+	+	
0,27						+	
0,19	+	+	+			+	

Таблица 6.

Значение коэффициента удержания R_f зон адсорбции этанольных экстрактов объектов в элюирующей системе В, в УФ лучах 365 нм.

R_f	Объекты исследования						
	Эталон	3	4	5	6	7	8
0,92	+	+		+	+		+
0,88			+				+
0,86	+	+					+
0,81		+					+
0,72	+	+		+	+		+
0,71			+			+	
0,69							+
0,66		+		+	+		
0,62			+			+	
0,61	+	+		+	+		+
0,58				+	+	+	+
0,55			+			+	
0,53	+	+					
0,49						+	
0,43		+	+			+	
0,41	+			+	+		
0,38		+					
0,36			+			+	
0,35	+			+	+		
0,32		+					
0,30	+			+	+		
0,27		+					
0,26						+	
0,24			+	+			

ПРИМЕЧАНИЕ. Цвет знаков + примерно соответствует цвету зоны адсорбции на хроматографических профилях, наблюдаемых в УФ лучах 365 нм.

Таблица 7.

Значение коэффициента удержания R_f зон адсорбции этанольных экстрактов объектов в элюирующей системе С, в УФ лучах 365 нм.

R_f	Объекты исследования							
	Эталон	2	3	4	5	6	7	8
0,92	+	+	+	+	+	+	+	+
0,85	+	+	+		+	+		+
0,79	+	+				+		
0,76			+					+
0,73			+					+
0,64			+					+
0,60								+
0,58	+	+	+		+	+		
0,49	+	+	+		+	+		+
0,39	+		+	+			+	
0,36						+		
0,32				+			+	
0,27								+
0,24				+			+	
0,20	+	+	+		+	+	+	
0,17				+			+	
0,15	+	+	+		+	+		
0,14				+			+	
0,13								+
0,12	+	+			+	+	+	
0,10				+				+
0,09	+	+	+		+	+		

ПРИМЕЧАНИЕ. Цвет знаков + примерно соответствует цвету зоны адсорбции на хроматографических профилях, наблюдаемых в УФ лучах 365 нм.

2.3. Сравнительное исследование этанольных экстрактов объектов методом спектроскопии в ультрафиолетовой и видимой области света

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях основана на способности молекул и ионов поглощать свет при определённых длинах волн в ультрафиолетовом и видимом диапазонах спектра. Испытуемый образец подвергается воздействию монохроматического светового потока в определенном диапазоне длин волн. Спектр строится по зависимости показателя оптической плотности от длины волны. Оптическая плотность (A) является измеряемой безразмерной величиной, представляющей собой десятичный логарифм величины, обратной пропусканию для монохроматического излучения; она определяется по формуле:

$$A = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right),$$

где A – оптическая плотность; I – интенсивность прошедшего монохроматического излучения; T – пропускание. I_0 – интенсивность падающего монохроматического излучения.

Вывод. Использование метода тонкослойной хроматографии показывает, что наибольшее сходство хроматографического профиля объектов исследования с профилем образца сравнения показывают объекты 2, 5 и 6. Это согласуется с тем, что эти объекты имеют сходную окраску этанольных экстрактов. Объект №3 обладает сходным профилем с образцом сравнения, но имеет большое количество зон адсорбции не свойственных профилю образца сравнения. Таких зон наблюдается 7 в элюирующей системе В. Особенно выделяются наблюдаемые в видимой области зоны адсорбции синего и зеленого света, свидетельствующие о наличии в составе БАД компонента, не заявленного изготовителем. Объект №7 обладает сходным с образцом сравнения в наиболее полярной из испытанных элюирующих систем (система А). В менее полярных системах В и С профили образца сравнения и объекта №7 не совпадают, при этом в неполярной системе С, наблюдается наименьшее число зон адсорбции среди всех объектов. Наименьшим сходством с профилем объекта образца сравнения обладают объекты №4 и №8.

Пропускание (T) представляет собой отношение интенсивности светового потока, прошедшего через образец, к интенсивности падающего на образец светового потока и определяется по формуле:¹³

$$T = \frac{I}{I_0},$$

Цель исследования. Получить спектры светопоглощения этанольных экстрактов объектов исследования в видимой и в УФ области.

Задачи исследования. Подготовить объекты, снять спектральные характеристики в видимой области света и в ультрафиолетовой области. Обработать полученные данные и провести сравнительный анализ.

Оборудование. спектрометр «PerkinElmer UV/VIS Spectrometer Lambda 35», кюветы кварцевые с толщиной поглощающего слоя 1 см.

Реактивы. Спирт этиловый 96%.

Гипотеза. При схожем химическом составе объекта, в спектре его поглощении будут наблюдаться одни и те же максимумы поглощения.

Проведение исследования

Исследование проводили на спектрометре PerkinElmer UV/VIS Spectrometer Lambda 35. Использовалась кварцевая кювета с толщиной поглощающего слоя 1 см. Полученные спектры регистрируются и отображаются в программе VinLab. Далее спектры конвертировали в формат *.csv и обрабатывали в программе Excel.

Заполняли кюветы экстрактами объектов исследования, полученными нагреванием на водяной бане при 70°C в течении 15 мин из сырья с навеской в 0,5 грамм в 10 мл 96% этилового спирта. Отдельная кювета заполняется 96% этиловым спиртом - раствор сравнения. Кювета с исследуемым образцом, и раствором сравнения помещается в соответствующие ячейки в приборе, и накрывается крышкой. Снятие спектров в видимой и ультрафиолетовой области спектра осуществляется в автоматическом режиме. Полученные данные выводятся в программе VinLab. При проведении спектроскопии в видимой области для экстрактов объектов №5, и №6 обладающих интенсивной вишнево-красной окраской наблюдалось избыточное поглощение, приводящее к зашкаливанию показателя оптического поглощения, поэтому было проведено повторное измерение спектров поглощения этих объектов при их разбавлении в 4 раза.

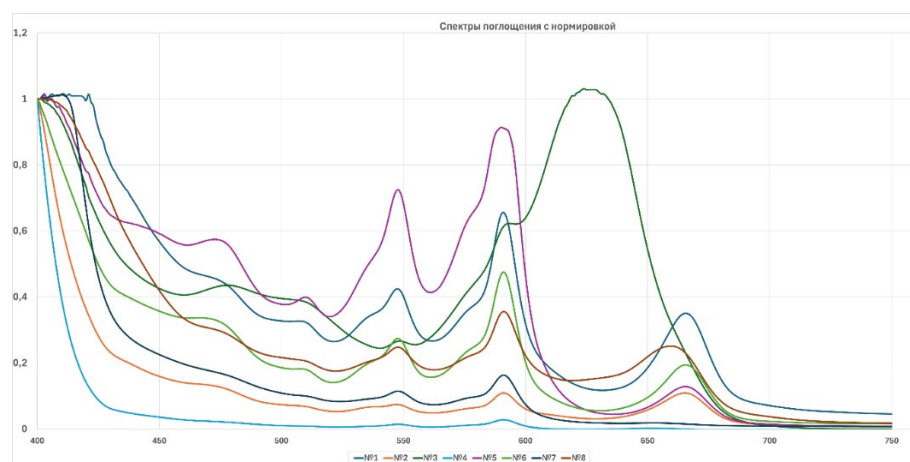


Рис. 12. Нормированные электронные спектры поглощения в видимой области (диапазон длин волн 400–750 нм)

¹³ Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях. ОФС.1.2.1.1.0003. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 2-х томах. Т.1. – М.: Минздрав России, 2023. – С. 1169.

Для снятия спектров оптического поглощения в ультрафиолетовой области (220-400 нм) заполняли кюветы 100 мкл экстрактов объектов №1, №2, №3, №4, №7, №8 и 25 мкл экстрактов объектов №5, №6 и разбавляли их 4 мл этилового спирта 96%. Полученные результаты выводятся в программу WinLab. Дальнейшая обработка осуществляется в программе Microsoft Excel.

Результаты исследования. Использование метода спектроскопии в видимой области спектра (400–700 нм) показало совпадение максимумов поглощения у экстракта образца сравнения (объект №1) и объектов №2, №4, №5, №6, №7, №8. Максимумы поглощения и характер спектра экстракта объекта №3 не совпадает с другими исследованными объектами. Результаты исследования приведены на рисунке 12 и таблице 8.

Таблица 8.

Основные характеристики спектров объектов №1–8 в диапазоне длин волн 400–750 нм.

Объект	Длина волны, нм							
	460-490	500-520	520-540	540-560	560-580	580-600	610-640	660-680
1	Плечо	Плечо	Плечо	+	Плечо	+	-	+
2	Плечо	-	Плечо	+	Плечо	+	-	+
3	+	-	-	+	-	плечо	+	-
4	-	-	-	+	-	+	-	-
5	+	+	Плечо	+	Плечо	+	-	+
6	плечо	Плечо	Плечо	+	Плечо	+	-	+
7	-	-	-	+	Плечо	+	-	-
8	Плечо	-	Плечо	+	Плечо	+	-	+

Совпадение значений длин волн, при которых обнаруживаются максимумы оптического поглощения для различных объектов исследования, свидетельствует о том, что полученные экстракты в своем составе имеют сходные вещества. Для объектов 3, 4 и 7, не наблюдаются максимумы поглощения в области 660–680 нм, свойственные лиофильным веществам согласно литературным данным.

Использование метода молекулярной спектроскопии в ультрафиолетовой области спектра (220–400 нм) показало наличие интенсивного максимума поглощения в области 250–260 нм в спектре этанольного экстракта объекта №8.

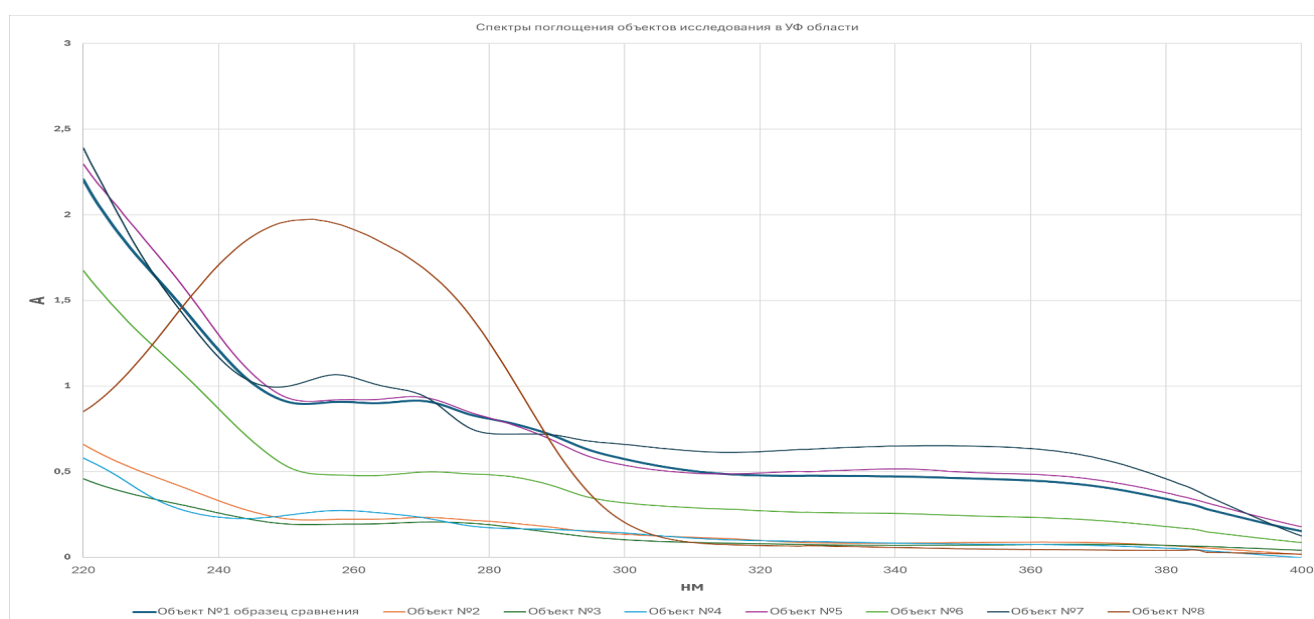


Рис. 13. Электронные спектры поглощения экстрактов исследуемых объектов в диапазоне длин волн 220–400 нм.

Вывод по результатам исследования методом электронной спектроскопии. Характер спектра поглощения в видимой области, позволяет производить оценку сходства качественного состава по окрашенным веществам. При наличии в составе объекта компонентов не характерных для других объектов, в том числе образца сравнения характер спектра будет изменяться. Например, характер спектра объекта №3 в видимой области значительно отличается от характера спектра объекта образца сравнения (наличие максимума в диапазоне длин волн 610–640 нм. Характер спектра поглощения объекта №8 в УФ области значительно отличается от характера спектра образца сравнения (наличие максимума в диапазоне длин волн 650–655 нм). Используя литературные данные возможно отнести наблюдаемые особенности спектров объектов к наличию или отсутствию тех или иных групп веществ.

2.4 Применение фармакопейного спектрофотометрического метода для получения данных о содержании фенольных соединений в пересчете на рутин в объектах исследования и образце сравнения.

В ФС 2.5.0015.15 приводится методика определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин, результат анализа выражается в массовой доле рутина в сухом сырье. Методика основана на измерении оптического поглощения комплекса трихлорида алюминия с флавоноидами при длине волны 415 нм.¹⁴

Гипотеза. Полученные значения содержания флавоноидов в сухом веществе могут характеризовать объекты с точки зрения их пищевой ценности, а также могут быть использованы для расчета разницы в дозировках флавоноидов поступающих в организм человека.

Цель исследования. Определить процентное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье объектов исследования.

Задачи исследования.

1. Отобрать пробу исследуемого сырья.
2. Подготовить пробу к анализу
3. Провести анализ.
4. Определить влажность исследуемого сырья.
5. На основании полученных данных вычислить содержание флавоноидов в сухом веществе объектов исследования.

Оборудование и посуда. Спектрофотометр «ПЭ-5300ВИ», кюветы кварцевые с толщиной поглощающего слоя 1 см, весы лабораторные аналитические ВЛ-120, колбы конические термостойкие емкостью 100 мл, пробки резиновые с обратными холодильниками, стаканы лабораторные емкостью 25 мл, обратные холодильники, колбы мерные емкостью 25 мл, 50 мл, водяная баня, штатив, металлическое кольцо, муфта, стеклянные воронки 75 мл, фильтр бумажный марки белая лента, пипетки стеклянные емкостью 0,1 мл, 25 мл градуированные, дозатор емкостью 1 – 5 мл, сито металлическое с диаметром пор 1 мм, ступки фарфоровые с пестиком, бюксы, эксикатор заполненный хлоридом кальция.

Реактивы. Спирт этиловый 96 %, спирт этиловый 50%, $AlCl_3 \times 6H_2O$ чда, уксусная кислота раствор 30 %, рутин РМ Инжиниринг по ТУ 6-09-10-498—76.

Проведение исследования

Отбор проб. Для проведения анализа необходимо отобрать точные навески исследуемого сырья. Согласно методике, соотношение массы сырья и объема экстрагента равно 1:30. Навеску сухого вещества каждого из объектов исследования измельчили в ступке и отобрали 0,5 г частиц,

¹⁴ Зверобоя трава. ФС 2.5.0015.15. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 4-х томах. Т.IV. – М.: Минздрав России, 2018. – С. 6081–6083.

просеянных через сито с диаметром пор 1 мм. Уточнили массу навески на аналитических весах с точностью до 4 знака после запятой.

Таблица 9.

Массы a навесок сырья объектов исследования (г).

Объект	1	2	3	4	5	6	7	8
a (г)	0,5379	0,5071	0,4910	0,5026	0,5217	0,4845	0,4724	0,5520

Пробоподготовка. К навескам, перенесенным в конические колбы на 100 мл, добавили 15 мл водного раствора этилового спирта с массовой долей 50%. Закрывали колбы пробками с обратными холодильниками. Поместили в водяную баню, нагретую до 65 °С на 30 минут. По истечении времени полученные экстракты декантировали и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу на 50. Экстракцию в описанных условиях повторяли еще два раза. Полученные извлечения в мерных колбах довели спиртом до метки.

Для приготовления испытуемых раствором отбирали 1 мл из полученных экстрактов объектов, поместили в мерные колбы на 25 мл, добавили 2 мл 2 - % спиртового раствора $AlCl_3$. Для приготовления растворов сравнения отобрали 1 мл из полученных экстрактов объектов исследования, поместили в мерные колбы на 25 мл, добавили 0,1 мл раствора уксусной кислоты 30 %.

Анализ. В кварцевую кювету с толщиной поглощающего слоя 1 см поместили испытуемый раствор объекта исследования предварительно промыв ее этим же раствором. В другую кювету поместили раствор сравнения, приготовленный из того же объекта исследования что и испытуемый раствор. Кюветы установили в спектрофотометр, настроили рабочую длину волны 415 нм, установили темновой ток по заглушке и 100% пропускания по раствору сравнения в режиме пропускания спектрофотометра. В режиме поглощения провели серию измерений показателя оптической плотности испытуемого раствора объекта исследования. По описанному алгоритму провели измерения для остальных объектов.

Таблица 10.

Среднее значение оптической плотности A при длине волны 415 нм

Объект	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,322	0,459	0,289	0,261	0,539	0,216	0,616	0,249

Определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин осуществляем методом сравнения, который заключается в сравнении показателя оптической плотности исследуемого раствора с показателем оптической плотности раствора рутина. Раствор рутина готовили из точно взятой навески в условиях описанных в ФС 2.5.0015.15. Навеску рутина массой 0,0276 г предварительно высушенного в сушильном шкафу в течение 3 ч при температуре 130 °С, растворяли в 40 мл этилового спирта 96% в мерной колбе вместимостью 50 мл в течении 3 часов при нагревании на водяной бане. Охладили раствор и довели до метки этиловым спиртом 96%. Из раствора рутина отобрали в две мерные колбы емкостью 25 мл по 1 мл полученного стандартного раствора. В одну добавили 2 мл раствора $AlCl_3$ в 96% этиловом спирте, 0,1 мл раствора уксусной кислоты 30 % и довели до метки этиловым спиртом 96% (испытуемый раствор рутина). В другую колбу добавили 0,1 мл уксусной кислоты 30% и довели до метки этиловым спиртом 96% (раствор сравнения рутина). Провели измерения оптической плотности на длине волны 415 нм по алгоритму, примененному ранее для объектов исследования. Получили среднее значение оптического поглощения испытуемого раствора рутина (в дальнейшем A_0), оно составило 0,479.

Определение влажности объектов исследования. Метод основан на измерении потери в массе при высушивании за счет удаления влаги и летучих веществ, которую определяют в лекарственном растительном сырье (свежем и высушенном), лекарственных растительных препаратах, лекарственном средстве животного происхождения (бадяга) при высушивании до постоянной массы или другим методом, описанным в ОФС.1.5.3.0007.15.¹⁵

Для определения влажности в бюксы поместили точную навеску вещества объектов исследования. Поместили в сушильный шкаф на 2 часа при температуре 105 °С. После высушивания поместили бюксы для остывания в эксикатор на 30 минут. Измерили массу после высушивания. После взвешивания бюксы с навесками поместили в сушильный шкаф на 30 минут при температуре 105 °С и снова взвесили. Повторяли взвешивания до установления постоянной массы после высушивания. Постоянную массу считали достигнутой если разница между двумя последующими взвешиваниями не превышала +/- 0,0005 г.

Таблица 11.

Исследование на влажность: m масса навески объекта (г) до высушивания,
 m_x масса навески объекта (г), установившаяся после высушивания

Объект	1	2	3	4	5	6	7	8
m (г)	1,3583	1,2855	1,8292	1,6556	1,2905	1,1776	1,6426	1,4408
m_x (г)	1,2531	1,1775	1,6535	1,5252	1,1781	1,0817	1,4557	1,3700

Влажность испытуемого образца в процентах (W) вычисляли по формуле:

$$W = \frac{(m - m_x)}{m} \times 100$$

где m - масса до высушивания, г; m_x - масса после высушивания, г.

Результаты приведены в таблице 12.

Таблица 12.

Результаты определения влажности объектов W (%)

Объект	1	2	3	4	5	6	7	8
W (%)	7,74	8,40	9,61	7,88	8,71	8,14	11,38	4,91

Полученные значения влажности исследуемого сырья использовали для расчета содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье объектов исследования.

Обработка данных. Определение содержания суммы флавоноидов.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье (X) вычисляли по формуле, приведенной в ФС 2.5.0015.15.

$$X = \frac{A \times a_0 \times P \times 100}{A_0 \times a \times (100 - W)}$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора объектов исследования; a_0 – навеска СО рутина, г; P – содержание основного вещества рутина, %; A_0 – оптическая плотность испытуемого раствора рутина; a – масса навески сырья объектов исследования, г; W – влажность сырья, %. Результаты приведены в таблице 13.

Вывод: Содержание суммы флавоноидов в исследуемом сырье является характеристикой его пищевой ценности, пониженное содержание флавоноидов в объекте №6 и №8 согласуется с данными, полученными при исследовании этанольных экстрактов объектов методом ТСХ. В

¹⁵ Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. ОФС.1.5.3.0007.15. // Государственная фармакопея Российской Федерации. В 2-х томах. Т. II. – М.: Минздрав России, 2023. – С. 2361–2364.

элюирующей системе «А» для исследуемого объекта в УФ лучах и на проявленной иодом пластинке не наблюдается зона адсорбции с $R_f = 0,37$ свойственная для рутина в данной системе.

Таблица 13.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье X

Объект	A	a (г)	W (%)	A_0	a_0 (г)	P (%)	X (%)
1	0,322	0,5379	7,74	0,479	0,0276	99,4	3,72
2	0,459	0,5071	8,40				5,66
3	0,289	0,4910	9,61				3,73
4	0,261	0,5026	7,88				3,23
5	0,539	0,5217	8,71				6,48
6	0,216	0,4845	8,14				2,78
7	0,616	0,4724	11,38				8,42
8	0,249	0,5520	4,91				2,72

2.5 Сравнительное исследование количества флавоноидов поступающих в организм человека из исследуемых объектов при приеме согласно способам применения и дозам, указанным на упаковках.

Согласно результатам исследований, исследуемые биологически активные добавки имеют различную форму, качественный и количественный состав. Производителем для каждого объекта заявлены рекомендуемые дозировки, а в случае для объектов исследования №1 и №2, указаны так же и способ применения.

Объект №1 принятый нами как образец сравнения является зарегистрированным и утвержденным лекарственным препаратом, дозировка и способ применения которого разработаны с учетом различных испытаний в том числе и клинических. В случае БАД, для их регистрации достаточно соответствовать нормам регулируемым законодательством в области продуктов питания (ФЗ) от 02.01.2000 № 29-ФЗ соответственно клинические испытания и расчет дозировок для БАД проводятся только по желанию производителя.

Цель исследования: сравнить дозы биологически активных веществ, поступающих в организм человека при употреблении исследуемых БАД в дозировках, рекомендованных производителем с дозой веществ, поступающей при употреблении лекарственного препарата в установленных для него дозировках, принятого нами в качестве образца сравнения.

Задачи исследования.

1. Вычислить среднюю массу употребляемой формы объектов исследования
2. Рассчитать дозу флавоноидов, поступающих в организм при употреблении объекта образца сравнения в установленных для него способе применения и дозировке.
3. Вычислить дозу флавоноидов поступающих в организм при употреблении исследуемых БАД в дозировках, рекомендуемых для них производителем.

Оборудование и посуда. Спектрофотометр «ПЭ-5300ВИ», кюветы кварцевые с толщиной поглощающего слоя 1 см, весы лабораторные аналитические ВЛ-120, колбы мерные емкостью 25 мл, 100 мл, стакан стеклянный лабораторный ТС емкостью 150 мл, штатив, металлическое кольцо, муфта, стеклянные воронки 75 мл, фильтр бумажный марки белая лента, пипетки стеклянные емкостью 0,1 мл, 25 мл градуированные, дозатор емкостью 1 – 5 мл.

Реактивы. Спирт этиловый 96 %, $AlCl_3 \times 6H_2O$ чда, уксусная кислота раствор 30 %.

Гипотеза. Расчет доз вещества поступающего при употреблении БАД и сопоставление его с установленной дозировкой, может служить методом оценки качества исследуемого объекта.

Проведение исследования

Таблица 14.

Результаты расчета средней массы сухого вещества
содержимого капсулы, таблетки объектов исследования $\langle m_{\text{капсулы}} \rangle$ (г).

Объект	m_i капсулы (г)										$\langle m_{\text{капсулы}} \rangle$
	m_1	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	
3	0,4046	0,4128	0,3863	0,393	0,3912	0,3819	0,3962	0,4159	0,3535	0,3948	0,3930
4	0,4326	0,4409	0,4601	0,3781	0,4237	0,422	0,4086	0,3777	0,4141	0,4323	0,4190
5	0,2503	0,2777	0,2615	0,2516	0,2556	0,2204	0,3014	0,2753	0,2615	0,2655	0,2621
6	0,1599	0,1972	0,1600	0,2124	0,1805	0,1272	0,1699	0,2025	0,1627	0,1364	0,1709
7	0,4097	0,4151	0,3942	0,4265	0,4082	0,4102	0,4206	0,3987	0,4205	0,4075	0,4111
8	0,2044	0,2060	0,2222	0,2047	0,2213	0,2058	0,2148	0,2096	0,2077	0,2024	0,2099

Расчет количества флавоноидов поступающей из лекарственного средства образца сравнения в пересчете на рутин. Согласно инструкции 2 фильтр пакета поместили в посуду, в нашем случае стеклянный стакан на 150 мл. Добавили примерно 100 мл горячей воды, настаивали в течение 15 минут придавливая фильтр пакетики стеклянной палочкой, затем отжимали их. Затем полученный настой перенесли в мерную колбу объемом 100 мл фильтруя через бумажный фильтр марки белая лента и довели до метки водой. По 1 мл полученной водной вытяжки перенесли в две мерные колбы объемом 25 мл. В одну колбу добавили 2 мл раствора AlCl_3 3% в этиловом спирте, довели до метки этиловым спиртом 96% (испытуемый раствор). В другую колбу добавили 0,1 мл уксусной кислоты, разведенной 30% и довели до метки этиловым спиртом 96% (раствор сравнения). Измерение оптической плотности испытуемого раствора осуществляем на спектрофотометре при длине волны 415 нм.

Полученное в результате серии измерений значение $A = 0,438$

Согласно инструкции принимают полученную водную вытяжку, массу извлеченных из навески флавоноидов в пересчете на рутин $m_{\text{фл.}}$ (г). рассчитывали по формуле:

$$m_{\text{фл.}} = \frac{A \times a_0 \times P}{A_0 \times 100} \times \frac{100}{50} = \frac{A \times a_0 \times P}{A_0 \times 50}$$

где: a_0 – навеска СО рутин, г; P – содержание основного вещества рутин, %; A_0 – оптическая плотность испытуемого раствора рутин;

Подставляя все известные значения получим:

$$m_{\text{фл.}} = \frac{0,438 \times 0,0276 \times 99,4}{0,479 \times 50} = 0,0502 \text{ г}$$

Согласно инструкции, следует принимать изготавливаемый настой 3 раза в день. Поэтому $m_{\text{фл.}} \text{ суточн} = 0,1506$

Доза флавоноидов поступающих в организм при употреблении БАД: рассчитали дозу флавоноидов поступающих в организм при употреблении единицы формы исследуемых БАД $m_{\text{фл.БАД}}$ (г/шт): для этого использовали формулу:

$$m_{\text{фл. БАД}} = \frac{X \times \langle m_{\text{капсулы}} \rangle \times \left(\frac{100 - W}{100}\right)}{100} = \frac{X \times \langle m_{\text{капсулы}} \rangle \times (100 - W)}{10000}$$

Результаты расчета дозы флавоноидов в единице
употребляемой формы препарата объекта исследования $m_{\text{фл.БАД}}$ (Г/ШТ).

Объект	$\langle m_{\text{капсулы}} \rangle$	X (%)	W (%)	$m_{\text{фл.БАД}}$ (Г/ШТ)
3	0,3930	3,73	9,61	0,0132
4	0,4190	3,23	7,88	0,0125
5	0,2621	6,48	8,71	0,0155
6	0,1709	2,78	8,14	0,0044
7	0,4111	8,42	11,38	0,0307
8	0,2099	2,72	4,91	0,0054

Рассчитали суточное поступление флавоноидов при приеме согласно рекомендации производителя, результаты приведены в таблице 16.

Результаты расчета суточной дозы флавоноидов (г)
для объектов №3, №4, №5, №6, №7 и №8

Объект	$m_{\text{фл. БАД}}$ (Г/ШТ)	Поступление в день (шт)	Суточная доза флавоноидов (г)
3	0,0132	2–3 капсулы	0,0264 – 0,0396
4	0,0125	2 капсулы	0,025
5	0,0155	4 капсулы	0,062
6	0,0044	4 капсулы	0,0176
7	0,0307	2–3 капсулы	0,0614 – 0,0921
8	0,0054	1–3 таблетки	0,0054 – 0,0162

Вывод. Исследование показало, что количество флавоноидов, поступающих в наш организм из исследуемых добавок значительно меньше, чем при приеме лекарственного препарата зверобоя травы, для объектов: №3 – в 3,8 раз меньше, №4 – в 6 раз меньше, №5 – в 2,4 раза меньше, №6 – в 8,6 раз меньше, №7 – в 1,6 раз меньше, №8 – в 9,29 раз меньше. Исследование охватывает лишь одну из групп биологически активных соединений, содержащихся в зверобое, однако его результаты могут быть применены для оценки эффективности и допустимости применения исследуемой БАД. Единственным необходимым для такой оценки условием являются нормативы, которые должны быть разработаны для той или иной группы биологически активных веществ, с учетом различных видов исследования, как химических, так и медико-биологических.

2.6 Обработка и анализ результатов компаративного анализа исследуемых БАД.

для каждого из исследуемых объектов.

Объект №2 является высушенной травой зверобоя, реализуемой в виде БАД. Результаты исследования показали для этого объекта максимальное сходство с объектом образца сравнения что являлось ожидаемым для объекта максимально похожего на образец сравнения, ввиду того что объект №2 практически не подвергался обработке.

Окраска этанольного экстракта объекта №2 идентична окраске этанольного экстракта объекта образца сравнения. Хроматографические профили объекта №2 в элюирующих системах «А» и «В» практически идентичны, обладают одинаковыми зонами адсорбции. В системе «А» зона адсорбции с $R_f = 0,37$ соответствующая рутину обладает большей площадью и интенсивностью чем

у образца сравнения. Что согласуется с результатами количественного определения содержания суммы флавоноидов в абсолютно сухом веществе объектов исследования. Для объекта №2 содержание суммы флавоноидов составляет 5,66% что превышает содержание в образце сравнения (3,72%). Спектр поглощения в видимой и УФ области объекта №2 обладает всеми максимумами поглощения свойственными образцу сравнения.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что объект №2 обладает схожим составом с образцом сравнения.

Объект № 3 является субстанцией, состоящей из мелких частиц темно-коричневого цвета в желатиновых капсулах.

Этанольный экстракт объекта №3 обладает интенсивным темно-зеленым окрашиванием, несвойственным для окраски этанольного экстракта образца сравнения. В элюирующей системе «А» его хроматографический профиль имеет 8 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 1 нехарактерную. В элюирующей системе растворителей «В» 5 зон адсорбции характерных и 6 нехарактерных профилю образца сравнения. В элюирующей системе растворителей «С» 8 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 3 нехарактерных. В спектре поглощения в видимой области спектра объекта №3 наблюдается интенсивный максимум поглощения (610–640 нм) несвойственный для образца сравнения. Содержание одной из основных групп биологически активных веществ (флавоноидов) в абсолютно сухом сырье составляет 3,73%. При приеме согласно максимальной рекомендуемой дозировке в день в организм человека поступает 0,0396 граммов флавоноидов (в пересчете на рутин). Что в 3,8 раз меньше, чем при приеме объекта №1 в установленной для него дозировке.

Результаты исследования показывают общее сходство по компонентному составу с объектом образца сравнения, однако используемые методы анализа показывают наличие большого числа компонентов, отсутствующих в образце сравнения в составе исследуемого БАД, и меньшее количество поступающих с разовой дозой биологически активных веществ из группы фенольных соединений.

Объект №4 является субстанцией, состоящей из мелких частиц бежевого цвета в желатиновых капсулах.

Этанольный экстракт объекта №4 обладает бледно желтым окрашиванием, несвойственным для окраски этанольного экстракта образца сравнения. В элюирующей системе «А» его хроматографический профиль имеет 4 зоны адсорбции характерные для профиля образца сравнения и 5 нехарактерных. В элюирующей системе «В» 0 зон адсорбции характерных и 7 нехарактерных профилю образца сравнения. В системе «С» 0 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 6 нехарактерных. В спектре поглощения в видимой области объекта №4 наблюдается лишь 2 максимума поглощения в области 540–560 и 580–600 свойственных образцу сравнения. Других максимумов поглощения свойственных образцу сравнения не наблюдается. Содержание одной из основных групп биологически активных веществ (флавоноидов) в абсолютно сухом сырье составляет 3,23%. При приеме согласно максимальной рекомендуемой дозировке в день в организм человека поступает 0,025 грамм флавоноидов (в пересчете на рутин). Что в 6 раз меньше, чем при приеме объекта №1 в установленной для него дозировке.

Результаты исследования показывают очень слабое сходство с объектом образца сравнения, и меньшее поступление биологически активных веществ из группы фенольных соединений. Полученные данные могут свидетельствовать о низкой ценности исследуемой БАД.

Объект №5 является субстанцией, состоящей из мелких частиц коричневого цвета в желатиновых капсулах.

Этанольный экстракт объекта №5 обладает интенсивным вишнево-красным окрашиванием, свойственным окраске этанольного экстракта образца сравнения. В элюирующей системе «А» его хроматографический профиль имеет 7 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 2 нехарактерных, в системе «В» 6 зон адсорбции характерных и 3 нехарактерных для профиля образца сравнения. В системе «С» 8 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения. В спектре поглощения в видимой области объекта №5 наблюдается все максимумы поглощения свойственные для спектра поглощения образца сравнения. Содержание одной из основных групп биологически активных веществ (флавоноидов) в абсолютно сухом сырье составляет 6,48%. При приеме согласно максимальной рекомендуемой дозировке в день в организм человека поступает 0,062 грамм флавоноидов (в пересчете на рутин). Что в 2,4 раз меньше, чем при приеме объекта №1 в установленной для него дозировке.

Результаты исследования показывают значительное сходство с объектом образца сравнения, но меньшее поступление биологически активных веществ из группы фенольных соединений.

Объект №6 является субстанцией, состоящей из мелких частиц коричневого цвета в желатиновых капсулах.

Этанольный экстракт объекта №6 обладает интенсивным вишнево-красным окрашиванием, свойственным окраске этанольного экстракта образца сравнения. В элюирующей системе «А» его хроматографический профиль имеет 7 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 2 нехарактерных, в системе «В» 6 зон адсорбции характерных и 2 нехарактерных для профиля образца сравнения. В системе «С» 9 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 1 нехарактерную. В спектре поглощения в видимой области спектра объекта №6 наблюдается все максимумы поглощения свойственные для спектра поглощения образца сравнения. Содержание одной из основных групп биологически активных веществ (флавоноидов) в абсолютно сухом сырье составляет 2,78% и является одним из наименьших показателей среди испытанных объектов. Полученные данные согласуются с тем, что в хроматографическом профиле объекта №6 в системе растворителей «А», не наблюдается зона адсорбции характерная для рутина. При приеме согласно максимальной рекомендуемой дозировке в день, в организм человека поступает 0,0176 грамм флавоноидов (в пересчете на рутин). Что в 8,6 раз меньше, чем при приеме объекта №1 в установленной для него дозировке.

Результаты исследования показывают значительное сходство с объектом образца сравнения, но значительно меньшее поступление биологически активных веществ из группы фенольных соединений.

Объект №7 является субстанцией, состоящей из мелких частиц коричневого цвета в желатиновых капсулах.

Этанольный экстракт объекта №7 обладает оранжево-красной окраской, напоминающей окраску этанольного экстракта образца сравнения. В элюирующей системе «А» его хроматографический профиль имеет 7 зон адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 4 нехарактерных, в системе «В» 0 зон адсорбции характерных и 8 нехарактерных для профиля образца сравнения. В системе растворителей «С» 1 зона адсорбции характерная для профиля образца сравнения и 4 нехарактерных. В спектре поглощения в видимой области спектра объекта №7 наблюдаются максимумы поглощения в области 540–560 нм и 580–600 нм свойственные для спектра поглощения образца сравнения, и не наблюдаются максимум в области 660–680 нм

свойственный для липофильных веществ, согласно данным литературы.¹⁶ Отсутствие таких веществ в составе исследуемого объекта согласуется с тем, что в наименее полярной из используемых элюирующей системе «С», в УФ свете наблюдается наименьшее число зон адсорбции. В составе объекта №7 заявлен водорастворимый экстракт, т. е. экстракт содержащий преимущественно водорастворимые компоненты. Это так же согласуется с тем, что из всех исследуемых объектов сырье объекта №7 обладало наибольшим содержанием влаги, которое составляло 11,38%. Содержание одной из основных групп биологически активных веществ (флавоноидов) в абсолютно сухом сырье составляет 8,42% и является наибольшим показателем среди испытанных объектов. При приеме согласно максимальной рекомендуемой дозировке в день в организм человека поступает 0,0921 грамм флавоноидов (в пересчете на рутин). Что в 1,6 раз меньше, чем при приеме объекта №1 в установленной для него дозировке.

Результаты исследования показывают некоторое сходство с объектом образца сравнения. Способ получения экстракта, находящегося в составе исследуемой БАД, позволяет повысить содержания фенольных соединений в веществе, за счет снижения содержания других групп веществ в составе сухого вещества. Несколько меньшее поступление биологически активных веществ из группы флавоноидов по сравнению с образцом сравнения.

Объект №8 представляет из себя таблетированный препарат

Этанольный экстракт объекта №8 обладает коричневой окраской, несвойственной для этанольного экстракта образца сравнения. В элюирующей системе «А» его хроматографический профиль имеет 4 зоны адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 2 нехарактерных, в системе «В» 4 зоны адсорбции характерных и 4 нехарактерных для профиля образца сравнения. В системе «С» 3 зоны адсорбции характерных для профиля образца сравнения и 7 нехарактерных. В спектре поглощения в видимой области объекта №7 наблюдаются все максимумы поглощения свойственные для спектра поглощения образца сравнения. В спектре поглощения в УФ области наблюдается интенсивный максимум поглощения в области 250–255 нм, не характерный для образца сравнения и других объектов. Содержание одной из основных групп биологически активных веществ (флавоноидов) в абсолютно сухом сырье составляет 2,72% и является наименьшим показателем среди испытанных объектов. Это обусловлено наличием в составе БАД, большого количества различных добавок. При приеме согласно максимальной рекомендуемой дозировке в день в организм человека поступает 0,0162 грамм флавоноидов (в пересчете на рутин). Что в 9,3 раз меньше, чем при приеме объекта №1 в установленной для него дозировке.

Результаты исследования показывают, слабое сходство с объектом образца сравнения, большое количество добавок отражается в результатах, полученных различными методами, наименьшее поступление биологически активных веществ из группы флавоноидов среди исследованных объектов.

ВЫВОДЫ

1. Получение экстрактов и определение их окраски является начальным этапом для проведения последующего комплекса исследований. Окраска экстрактов в 96 % этаноле исследуемого сырья может свидетельствовать о способе получения экстракта, и о наличии примесей в составе исследуемых БАД. Однако этот показатель не дает информации о содержании тех или иных веществ.

¹⁶ Рудометова Н.В., Никифорова Т.А. Исследование экстракции гиперидина из зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.). // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств» - 2016 г. № 4. С. 34.

2. Совместное применение метода тонкослойной хроматографии и электронной спектроскопии в видимой и УФ области, может позволить отличать БАД различных производителей, для изготовления которых были использованы растения одного вида, но выращенные в разных климатических зонах или в разных условиях. Применение данных методов в перспективе также может позволить отличать БАДы, изготовленные из растений одного вида, но с применением различных технологических условий.

В некоторых случаях совместное использование метода ТСХ и электронной спектроскопии в видимой и УФ области может позволить выявлять вещества, не характерные для данного вида растений или созданные путем органического синтеза и внесенные искусственно в БАД.

Изучение вопроса по обнаружению примесей, не заявленных в составе БАД, требует дополнительных исследований.

3. Сравнительные исследования для оценки количественного содержания биологически активных веществ с применением метода спектрофотометрии позволяют оценивать качество БАД.

4. Совокупность примененных методов и методик, порядок оценки полученных результатов могут быть положены в основу методики для компаративной оценки растительных БАД.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Методика компаративного анализа БАД позволяет осуществлять испытания с целью выявления потенциально опасных или недоброкачественных изделий и назначения для них исследований с применением других аналитических методов (например ГЖХ-МС, ААС и др.), а также может являться одной из методик, реализуемых в рамках экспертной деятельности, производственного контроля и не только.

Потенциально перспективным исследовательским направлением может быть использование других аналитических методов в рамках компаративного анализа на различных вариантах объектов, для установления различных закономерностей и накопления экспериментальной и экспертной базы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Статьи.

1. *Лепешкина И.И.* Регистрация БАД. БАДы в России и на фармацевтическом рынке, проблема фальсификации БАДов. //Электронный научный журнал – 2015 г. № 1(1). С. 60–63. [Рассмотрена ситуация с оборотом БАДов на российском рынке.](#)

2. *Марков Н.И.* Анализ конкуренции и доминирования на рынке биологически активных добавок в России. //Проблемы прогнозирования. 2023 г. № 5. С. 110–123. [Приведен анализ динамики конкуренции и доминирования на рынке биологически активных добавок \(БАД\) в России с 2004 по 2022 гг., проанализирована связь между изменениями концентрации отрасли и законодательными актами, регламентирующими рекламу и оборот БАД, а также данные о долях крупнейших производителей для выявления доминирующих групп на рынке.](#)

3. *Петренко А.С. Суханов Б. П.* Практика использования биологически активных добавок к пище в зарубежных странах (на примере США). //Вопросы питания: научно-практический журнал - 2011г. №1 URL: [Практика использования биологически активных добавок к пище в зарубежных странах \(на примере США\).](#) (Дата обращения -15.01.2026). [Проведен анализ оборота биологически активных добавок \(БАД\) к пище на американском рынке. Приводятся существующие законодательства США, регулирующие в стране оборот этих БАД.](#)

4. *Постраш И.Ю.* Трава зверобоя продырявленного: химический состав, свойства, применение // Вестник АПК Верхневолжья: научный журнал - 2021 г. №1 (53). С. 57–63. [Обобщены сведения о химическом составе и фармакотерапевтических свойствах травы зверобоя продырявленного, применении его фитопрепаратов в терапевтических целях, современных способах выделения биологически активных веществ из данного лекарственного сырья.](#)

5. Рудометова Н.В., Никифорова Т.А. Исследование экстракции гиперического из зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.). //Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств» - 2016 г. № 4. С. 32–39. Установлено влияние содержания этилового спирта в экстрагенте, гидромодуля, размера частиц и предварительной мацерации растительного сырья на кинетику экстракции гиперического из травы зверобоя продырявленного.

6. Самсонова Д.П., Ларионов Е.А., Ларионова В.М. Исследование гриба *Cordyceps militaris* и биологически активных добавок, изготовленных на его основе, методами ТСХ, УФ-спектроскопии и гравиметрии. //Сборник материалов VI Калужских университетских чтений. - Калуга: КГУ им. К.Э. Циолковского, 2024. – С. 157-161. Представлены основные результаты сравнительных химических исследований плодовых тел гриба кордицепс военный (*Cordyceps militaris*) и биологически активных добавок, изготовленных из него, проводимых методами гравиметрии, тонкослойной хроматографии и УФ-спектроскопии.

7. Стасевич О.В., Коваленко Н.А., Супиченко Г.Н., Леонтьев В.Н. Хроматографический анализ и разделение гиперического содержащего экстракта зверобоя. //Труды БГТУ. Химия, технология органических веществ и биотехнология. 2012 г. № 4(151). С. 183–185. Представлены результаты качественно и количественно хроматографического анализа гиперического содержащих экстрактов зверобоя, на основе которых возможно создание лекарственных средств для лечения онкологических заболеваний методом фотодинамической терапии. Подобраны оптимальные условия для проведения ТСХ и ВЭЖХ анализов этанольных экстрактов зверобоя. Произведено хроматографическое разделение экстракта зверобоя на сорбенте Diaion HP-20, которое дало возможность повысить содержание гиперических по сравнению с исходным экстрактом более чем в 4 раза.

8. Тохирйён Б., Вялых Е.В., Челнакова Н.Г., Позняковский В.М. Информативные показатели качества и функциональной направленности БАД для комплексной нутриетивно-метаболической поддержки организма. //Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2019 г. Т. VII, № 3. С. 77–84. Разработан рецептурный состав специализированного продукта в капсулированной форме биологически активной добавки (БАД), ингредиенты которой обладают синергическими свойствами в отношении комплексной нутриетивно-метаболической поддержки организма. Представлены методики определения дигидрокверцетина, липоевой кислоты и фосфолипидов с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии.

9. Тутельян В.А. Здоровое питание для общественного здоровья. //Общественное здоровье. 2021 г. № 1. С. 56–64. Рассмотрено понятие здорового питания, безопасность пищи, обеспечение физиологических потребностей в энергии, пищевых и биологически активных веществах, важность разнообразия и сбалансированности рациона. Отражены основные нарушения структуры питания и предложены эффективные инструменты для ее улучшения.

10. Хрянин А.А., Радченко М. В. Биологически активные добавки и лекарственные средства — тенденции сближения в законодательстве и на практике (междисциплинарная дискуссия). //Русский Медицинский Журнал. Мать и дитя. 2025 г. Т. VIII. №1. С. 43-50. URL: https://www.rmj.ru/articles/ginekologiya/Biologicheski_aktivnye_dobavki_i_lekarstvennye_sredstva_tendencii_s_blizheniya_v_zakonodatelystve_i_na_praktike_meghdisciplinarnaya_diskussiya (Дата обращения -15.01.2026). Статья посвящена правовым аспектам применения биологически активных добавок (БАД) в контексте их сближения с лекарственными препаратами.

11. Шведова И.Д. Предупреждение фальсификации медицинских средств и бад: роль и перспективы использования технологии блокчейн // Научный дайджест Восточно-Сибирского института МВД России: электрон. журнал. Иркутск. 2023 г. №2 (20). С. 62–68. Приведены примеры использования технологии блокчейн для выявления фальсифицированных лекарственных средств и БАД.

12. Эчишвили Э.Э., Портнягина Н.В. Сырьевая продукция *hypericum perforatum* L разного географического происхождения в условиях интродукции //Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2021 г. №139. С.117–124. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/syrievaya-produktsiya-hypericum-perforatum-l-raznogo-geograficheskogo-proishozhdeniya-v-usloviyah-introduktsii?ysclid=mkp3ctwry> (Дата обращения - 21.01.2026).

Фармакопея

13. Зверобоя трава. ФС 2.5.0015.15. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 4-х томах. Т.IV. – М.: Минздрав России, 2018. – С. 6074–6083. Представлены методы идентификации и установления подлинности сухой травы зверобоя продырявленного и зверобоя пятнистого. Представлена методика для определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье. Описывается применение тонкослойной хроматографии в элюирующей системе состава: этилацетат – муравьиная кислота – вода 85:10:5.

14. Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. ОФС.1.5.3.0007.15. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 2-х томах. Т.II. – М.: Минздрав России, 2023. – С. 2361–2364. Описан метод определения влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

15. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях. ОФС.1.2.1.1.0003. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 2-х томах. Т.I. – М.: Минздрав России, 2023. – С. 1167–1191. Представлены рекомендации данного метода для количественного и качественного анализа лекарственных средств и других материалов в фармацевтической практике. С. 1171–1173 Оборудование. С. 1173–1176 Условия проведения испытаний

15. Тонкослойная хроматография ОФС.1.2.1.2.0003. //Государственная фармакопея Российской Федерации. В 2-х томах. Т.I. – М.: Минздрав России, 2023. – С. 1373–1388. (7019 с.) Описано применение метода тонкослойной хроматографии для испытания на подлинность лекарственных средств полуколичественным и количественным методом.

Учебные пособия.

16. *Даванков В.А., Онучак Л.А.* Хроматография. Основные понятия. Терминология. Словарь. – Самара: Самарский университет, 2022. – 68 с. Сформулированы основные понятия хроматографии, дано определение тонкослойной хроматографии.

17. *Илларионова Е.А., Сыроватский И.П.* Биологически активные и пищевые добавки. Оценка эффективности и безопасности. Учебное пособие. – Иркутск: ИГМУ, 2020. – 56 с. Приведены номенклатура, классификация, функции основных биологически активных добавок, затронуты вопросы эффективности, безопасности и основные проблемы применения.

18. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище. Методическое пособие. Издание официальное. – М.: Минздрав России, 1999. – 89 с. Представлены методические указания предназначенные для органов государственной исполнительной власти и органов местного самоуправления, предприятий, организаций, учреждений и иных юридических лиц, осуществляющих государственный и ведомственный санитарно-эпидемиологический надзор, а также для других организаций, уполномоченных на осуществление государственного контроля за безопасностью и эффективностью БАД.

19. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. - М.: ФЦГЭН Минздрава России, 2004.—240 с.

20. *Степин Б.Д.* Техника лабораторного эксперимента в химии. Учебное пособие. - М.: Химия, 1999. - 600 с. (К концу) Представлена технология эксперимента в химии и основные приемы работы в химической лаборатории, рассмотрена элементарная приборная техника, рекомендации по рациональному использованию химической посуды, различных приборов, материалов и по самостоятельному изготовлению несложных приборов. С. 29 Фильтровальная бумага С. 144 Пипетки. С. 209–210 Бани, жидкостные бани. С. 357 Выпаривание и концентрирование растворов.

21. *Фадеева В.И., Шеховцова Т.Н., Иванов В.М. и др.* Основы аналитической химии. Практическое руководство. Учебное пособие для вузов. – М.: Высшая школа, 2003. – 463 с.:

22. *Харитонов Ю.А.* Аналитическая химия. Аналитика 2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа. Учебник. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 656с. В книге рассмотрены основы различных методов анализа, гравиметрических, химических титриметрических, физико-химических и физических методов. С. 13 Количественный анализ С. 14 Классификация методов количественного анализа.

Нормативно-правовые источники

23. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011).

URL: <https://eec.eaeunion.org/comission/department/deptexreg/tr/PischevayaProd.php> (Дата обращения - 15.01.2026).

24. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя. Официальный сайт.

URL: rosпотребнадзор.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=11900 (Дата обращения - 14.01.2026).

25. ФЗ от 02.01.2000 № 29-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов» (последняя редакция). URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_25584/ (Дата обращения - 15.11.2025).

26. ФЗ от 07.06.2025 №150-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации». URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_507292 (Дата обращения - 18.01.26).

27. ФЗ от 12.04.2010 №61-ФЗ (ред. от 29.12.2025) «Об обращении лекарственных средств». – режим доступа. [КонсультантПлюс](#) (Дата обращения - 18.01.26).