УДК 615.324.451.16:543.544.5.068.7

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ СПИРТОВЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ПЧЕЛИНОГО ПОДМОРА И ЛИЧИНОК ВОСКОВОЙ МОЛИ

Шрамм Н.И., Бабиян Л.К., Трухина В.И., Белоногова В.Д., Гилева А.А., Веселкова Т.А.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», Пермь, e-mail: angelinaustinova@mail.ru

Цель исследования – выбор состава, разработка технологии спиртовых извлечений из пчелиного подмора и личинок восковой моли и их анализ. Изучено влияние природы экстрагента, измельченности сырья, способа экстрагирования на эффективность экстракции аминокислот в извлечения из пчелиного подмора. Выбраны оптимальные условия изготовления извлечения из пчелиного подмора: экстрагент – 40% этанол; сырье неизмельченное; метод получения – ремацерация или вихревая экстракция. Определен качественный состав аминокислот (12 наименований) и их суммарное содержание. Исследовано влияние вида экстрагента и времени настаивания на выход аминокислот в процессе экстрагирования личинок восковой моли. Установлено, что оптимальным экстрагентом является 25% этанол, метод получения – мацерация с периодическим перемешиванием в течение 11 суток; при этом в извлечение переходит 13 аминокислот и их суммарное содержание составляет 12,5 мг%.

Ключевые слова: спиртовые извлечения, пчелиный подмор, личинки восковой моли, аминокислоты

WORKING OUT AND EXPLORATION OF ALCOHOL EXTRACTION FROM BEES PODMORE, LARVA OF BEE-MOTH

Shramm N.I., Babiyan L.K., Trukhina V.I., Belonogova V.D., Gileva A.A., Veselkova T.A.

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: angelinaustinova@mail.ru

The aim of research is the choice of structure, working out the technology of alcohol extraction from bees podmore, larva of bee-moth and their analysis. The influence of extractant's nature, pulverulence of raw material, the way of extracting on efficiency of extraction of amino acid into extraction from bees podmore are explored. Optimal conditions of productions of extraction from bees podmore are chosen: 40% of ethanol; unreduced raw material; receiving method is rematseratsiya or vertical extraction. Qualitative structure of amino acid (12 appelations) and their total content is determined. The influence of extrctant and time of infusion on amino acid leaving during the process of larva's extraction bee-moth. Optimal extractant is 25% ethanol, receiving method is maceration with occasional immixture during 11 days; at the same time 13 amino acid are extracted and their total content is 12,5 mg%.

Keywords: of alcohol extraction, bees podmore, larva of bee-moth, amino acid

Апитерапия в последнее время приобретает все большую популярность. Продукты пчеловодства эффективны при лечении многих заболеваний. Если мёд, маточное молочко, цветочная пыльца широко известны, то о подморе – телах погибших пчёл – и его свойствах известно немного. Пчелиный подмор содержит комплекс биологически активных веществ, в том числе и аминокислоты, которые обусловливают разносторонний терапевтический эффект. Для оздоровительных целей пчелиный подмор может использоваться как в натуральном виде (порошок тел пчел), так и в виде продуктов более глубокой переработки, полученных путем экстракции.

Восковая моль («золотая бабочка», огнёвка) – одно из немногих живых существ, которые приспособились к обитанию в пчелином улье. Свое название она получила за уникальную способность переваривать и усваивать пчелиный воск. Издавна личинки восковой моли эффективно использовались в народной медицине при лечении большого количества заболеваний. Этот лечебный эффект можно объяснить присутствием аминокислот, в том числе девяти незаменимых, а также флавоноидов, нуклеотидов, микроэлементов и др.

Цель исследования – выбор состава, разработка технологии спиртовых извлечений из пчелиного подмора и личинок восковой моли и их анализ.

Материалы и методы исследования

В качестве материала для исследования были использованы: пчелиный подмор – неизмельчённый и измельчённый до 3 мм; личинки восковой моли – замороженные неизмельчённые.

При определении оптимальных условий получения извлечений из пчелиного подмора нами изучено влияние природы экстрагента, измельчённости сырья, способа экстрагирования на эффективность экстракции аминокислот.

В качестве экстрагента при получении извлечений из пчелиного подмора использовали воду очищенную и этанол различной концентрации (20, 40 и 60%). Водное извлечение (отвар) готовили в соотношении 1:10 по методике ГФ XI [2]. Спиртовые извлечения пчелиного подмора получали из неизмельчённого и измельчённого сырья в соотношениях 1:5 и 1:10 методом ремацерации. Кроме метода ремацерации нами была использована вихревая экстракция при скорости вращения 3000–4000 об/мин [5].

Полученные спиртовые извлечения отстаивали при температуре не выше 10 °С 2 суток и фильтровали.

При разработке технологии спиртового извлечения из личинок восковой моли представляло интерес исследование роли экстрагента и времени настаивания в экстракционном процессе. С этой целью использовали спирт этиловый в концентрации 25, 40 и 70 % .

Извлечения получали в защищённом от света месте при комнатной температуре в соотношении фаз 1:5 методом мацерации с периодическим перемешиванием. Длительность настаивания составляла 7, 11 и 21 сутки.

Влияние изучаемых факторов на эффективность экстракционного процесса оценивали по качественному составу и количественному содержанию аминокислот в извлечениях.

Качественный анализ свободных аминокислот проводили с помощью нингидриновой реакции и хроматографически.

При этом смешивали равные объемы исследуемого извлечения и 0,1 % свежеприготовленного раствора нингидрина и осторожно нагревали.

Хроматографический анализ проводили в тонком слое сорбента. Извлечения наносили на подготовленные хроматографические пластинки «Силуфол» и хроматографировали в системе растворителей: н-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2) параллельно со стандартными образцами аминокислот. Хроматограммы высушивали на воздухе, затем обрабатывали 0,2 % спиртовым раствором нингидрина и нагревали в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С в течение нескольких минут. Аминокислоты идентифицировали по красно-фиолетовому окрашиванию пятен [1, 4].

Для подробного изучения аминокислотного состава использовали аминокислотный анализатор фирмы Shimadzu марки LC-20 Prominence. Содержание аминокислот устанавливали по площади пиков удержания идентифицированных аминокислот в мг % [1, 3, 4].

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования извлечений из пчелиного подмора, полученных с использованием различных экстрагентов, показали, что при использовании в качестве экстрагента воды извлекается 10 аминокислот; наибольшее количество аминокислот (12 наименований) извлекается 40 % этанолом (табл. 1). При использовании в качестве экстрагента 20 и 60 % этанола извлекается наименьшее количество аминокислот (9 наименований), их суммарное содержание составляет 0,89 и 1,01 мг % соответственно. Учитывая полученные результаты, для дальнейших исследований мы использовали 40 % этанол.

Таблица 1

Содержание аминокислот в извлечениях из подмора

№ п/п	Содержание аминокислот, мг %	Метод получения, экстрагент (концентрация спирта), соотношение фаз				
		Мацерация, вода очищ. 1:10, сырьё неизмельч.	Вихревая экстракция, этанол 40 %, 1:10	Ремацерация, этанол 40 %, 1:10, сырьё неизмельч.	Ремацерация, этанол 40 %, 1:10, сырьё измельчённое	Ремацерация, этанол 40 %, 1:5, сырьё неизмельч.
1.	Аспарагин	0,03 ± 0,03	0,39 ± 0,012	0,02 ± 0,01	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,04
2.	Аланин	0,07 ± 0,012	0,21 ± 0,03	0,14 ± 0,05	0,11 ± 0,04	0,15 ± 0,05
3.	Валин	0,24 ± 0,04	3,35 ± 0,05	0,81 ± 0,04	1,00 ± 0,05	2,72 ± 0,06
4.	Гистидин	0,29 ± 0,02	0,12 ± 0,14	0,07 ± 0,022	0,07 ± 0,02	0,17 ± 0,03
5.	Глутаминовая кислота	0,04 ± 0,015	–	0,11 ± 0,014	0,05 ± 0,03	0,16 ± 0,03
6.	Глицин	–	0,75 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,28 ± 0,012	0,45 ± 0,011
7.	Изолейцин	0,05 ± 0,05	0,02 ± 0,03	0,06 ± 0,03	0,02 ± 0,02	0,07 ± 0,012
8.	Лейцин	–	–	0,05 ± 0,011	0,12 ± 0,014	–
9.	Лизин	–	–	0,30 ± 0,12	0,16 ± 0,02	0,33 ± 0,05
10.	Пролин	0,08 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,03 ± 0,013	0,06 ± 0,011	0,19 ± 0,02
11.	Серотонин	0,07 ± 0,011	0,22 ± 0,04	0,07 ± 0,04	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,02
12.	Тирозин	0,01 ± 0,001	0,05 ± 0,013	0,01 ± 0,04	–	0,01 ± 0,001
13.	Фенилаланин	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,015	–	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,01
	Суммарное содержание	0,92	5,33	1,91	2,04	4,40

Сравнительное изучение извлечений, полученных методом ремацерации в соотношении фаз 1:10 из неизмельчённого и измельчённого сырья показало, что в обоих вариантах извлекается одинаковый качественный состав аминокислот (по 12 наименований) и их суммарное содержание составляет соответственно 1,91 и 2,04 мг % (табл. 1). Учитывая статистически одинаковые результаты, считаем целесообразным использовать неизмельчённое сырьё.

Изучение соотношения фаз (сырьё – экстрагент) 1:5 и 1:10 выявило, что в обоих случаях извлекается по 12 наименований

аминокислот, однако суммарное содержание их в первом варианте в 2,3 раза больше, чем во втором (4,40 и 1,91 мг% соответственно, табл. 1).

При использовании вихревой экстракции извлекается меньший качественный состав аминокислот (9 наименований). Однако суммарный количественный выход аминокислот выше и составляет 5,33 мг% (табл. 1).

Как показали результаты анализа спиртовых извлечений из личинок восковой моли, полученных при комнатной температуре, наибольший качественный состав аминокислот (13 наименований) извлекается при настаивании 25% этанолом в течение 7 и 11 суток, однако суммарный выход аминокислот после 11 суток экстрагирования был в 1,5 раза больше (табл. 2).

Таблица 2

Содержание аминокислот в извлечениях из личинок восковой моли

№ п/п	Содержание аминокислот, мг%	Экстрагент (концентрация спирта), продолжительность экстракции				
		Этанол 25%, 7 суток	Этанол 25%, 11 суток	Этанол 25%, 21 сутки	Этанол 40%, 11 суток	Этанол 70%, 11 суток
1.	Аспарагин	0,15 ± 0,011	0,04 ± 0,02	0,31 ± 0,04	–	0,04 ± 0,03
2.	Аланин	0,30 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,42 ± 0,02	0,39 ± 0,03	0,37 ± 0,03
3.	Валин	4,20 ± 0,05	4,93 ± 0,06	1,89 ± 0,021	0,16 ± 0,02	0,27 ± 0,03
4.	Гистидин	0,05 ± 0,01	0,74 ± 0,03	–	0,10 ± 0,001	–
5.	Глутаминовая кислота	0,02 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,21 ± 0,03	–	–
6.	Глицин	2,95 ± 0,06	3,93 ± 0,07	4,28 ± 0,04	0,55 ± 0,05	0,75 ± 0,03
7.	Изолейцин	0,09 ± 0,04	0,08 ± 0,02	0,29 ± 0,03	0,02 ± 0,011	0,05 ± 0,013
8.	Лейцин	0,04 ± 0,012	0,22 ± 0,014	0,06 ± 0,01	–	0,01 ± 0,002
9.	Лизин	0,59 ± 0,02	1,03 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,02 ± 0,002	–
10.	Пролин	0,35 ± 0,02	0,30 ± 0,03	0,73 ± 0,04	0,08 ± 0,02	0,18 ± 0,03
11.	Серотонин	0,18 ± 0,03	0,43 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,02 ± 0,011	–
12.	Тирозин	0,02 ± 0,012	0,12 ± 0,03	0,06 ± 0,02		0,01 ± 0,03
13.	Фенилаланин	0,02 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,36 ± 0,03	0,01 ± 0,002	0,09 ± 0,03
	Суммарное содержание	8,97	12,50	9,13	1,35	1,76

При использовании 40 и 70% этанола извлекается 9 аминокислот, но их суммарный выход ниже, чем при использовании 25% этанола. Однако качественный состав аминокислот при использовании указанных концентраций спирта различен.

Заключение

Таким образом, определены технологические параметры получения извлечений из пчелиного подмора: неизмельчённое сырье; 40% этанол; метод ремацерации или вихревой экстракции.

Для получения извлечений из личинок восковой моли оптимальным экстрагентом является 25% этанол, метод получения – мацерация с периодическим перемешиванием в течение 11 суток.

Список литературы

1. Бубенчикова В.Н. Аминокислотный состав некоторых представителей растений семейства розоцветных / В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Сухомлинов, Н.Ф. Гончаров // Человек и здоровье. – 2009. – № 3. – С. 135–138.

2. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1,2. – МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1998. – 731 с.

3. Дроздова И.Л. Аминокислотный и минеральный состав листьев лопуха // Фармация. – 2004. – № 3. – С. 18–19.

4. Олешко Г.И. Разработка унифицированной методики количественного определения суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах // Фармация. – 2011. – № 3. – С. 14–17.

5. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. – М.: Медицина, 1976. – 204 с.

References

1. Bubenchikova V.N. Amino acid composition of some plant representative belonging to rose family / V.N. Bubenchikova, Y.A Sukhomlinov, N.F. Gonchmrov // Kursk scientific practical herald «human being and health». 2009. no. 3. pp. 135–138

2. State pharmacopeia of USSR. Publication 1,2. USSR ministry of health edition 11, supplemented. M.: Medicine, 1998. 731 p.

3. Drozdova I.L. Amino acid and mineral composition of burdock's leaves // Pharmacy 2004. no. 3. pp. 18–19.

4. Oleshko G.I. Working out quantitative determination of spare amino acid amount in medicinal vegetative raw material and extraction drug methodic // Pharmacy 2011 no. 3. pp. 14–17.

5. Ponamarev V.D. Extracting of crude drug. M.: Medicine, 1976. 204 p.

Рецензенты:

Алексеева И.В., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической технологии, проректор по УВР, ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, г. Пермь;

Вихарева Е.В., д.фарм.н., заведующий кафедрой аналитической химии, ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 18.04.2014.