

Рекомендована д.ф.н., професором П.Д.Пашневим

УДК 638.16:54.03/.04:547.458.233.3

ВИВЧЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ МЕДУ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО

О.І.Тихонов, А.Ю.Тимченко, В.П.Черненко

Національний фармацевтичний університет

На основі проведених досліджень доведено, що метод отримання меду ліофілізованого дозволяє зберегти якісний та кількісний склад меду натурального. Розроблено метод тонкошарової хроматографії, на підставі якого можна виявити наявність інвертованих цукрів. Визначено, що кількість інвертованих цукрів і діастазна активність меду ліофілізованого цілком співпадають з нормативними показниками, які розроблені для меду натурального.

Хімічний та біологічний склад меду робить його не тільки відмінним живильним, але і важливим фармакологічним об'єктом. Склад меду досить складний, в ньому міститься більше 70 речовин: моно-, дисахари, мінеральні солі, ферменти, ензими, вітаміни, які добре впливають на організм та зумовлюють його застосування як лікувального засобу. Біля 98-99% сухих речовин у натуральному меді припадає на вуглеводи. Вони визначають його цінність як енергетичного засобу. Всі вуглеводи меду засвоюються організмом людини [3, 11]. Основними з них є глюкоза і фруктоза (інвертований цукор), що складають близько 90% усіх цукрів. Глюкоза і фруктоза — єдині моносахариди меду, причому перше місце належить фруктозі, вміст якої складає в середньому 38-40%. Глюкози дещо менше — 32-35% [7, 9]. Властивості цих моносахаридів визначають основні якості меду: його солодкість, високу поживну цінність, кристалізацію, гігроскопічність та ін. Сахарози у меді міститься від 1,3% до 5%. Глюкоза швидко проникає через стінки шлунка і кишечника, її залишок накопичується в печінці у вигляді глікогену, котрий при необхідності перетворюється знову на глюкозу і надходить у кров. Глюкоза всмоктується швидше, ніж фруктоза. Всмоктування глюкози, введеної до складу меду, відбувається повніше, ніж чистої глюкози. Фруктоза, потрапляючи до шлунково-кишкового тракту, швидше за глюкозу використовується як енергетичний матеріал. Споживання великої кількості фруктози також приводить до її накопичення в печінці у вигляді глікогену. Однією з головних переваг меду

(по відношенню до цукру), є відсутність гіперхолестеринового ефекту, так як мед не підвищує вміст холестерину в організмі і внаслідок цього не спричиняє розвиток атеросклерозу [4, 6]. Глюкоза і фруктоза сприяють регулюванню діяльності нервової системи, підвищують тиск крові (коли він знижений), розширюють кровоносні судини, покращують живлення м'язів серця, посилюють діурез, покращують обмін речовин, серцеву діяльність і зупиняють кровотечу (гемостатична дія). У зв'язку з цим багато хто з авторів рекомендує застосовувати мед і його препарати для лікування захворювань серцево-судинної системи. Тому мед інколи використовується як засіб при послабленні серцевого м'яза як поживний засіб [5]. Енергетична цінність натурального меду прямо пропорційна вмісту вуглеводів і знаходиться у зворотній залежності від вмісту води.

Багатовіковий досвід народної медицини, а також всебічні експериментальні і клінічні дослідження свідчать про те, що бджолиний мед має велику цінність для терапії найрізноманітніших захворювань. Величезний арсенал хімічних препаратів, який є в розпорядженні сучасної медицини, не знижує значення апітерапії, оскільки мед як продукт рослинно-тваринного походження часто чинить на організм хворого більш фізіологічний вплив. Хімічний і біологічний склад меду роблять його важливим фармакологічним об'єктом, але фізико-хімічні властивості обмежують використання меду в технології лікарських форм. Метод ліофілізації дозволяє одержувати сухий порошкоподібний мед без втрати структурної цілісності та біологічної активності його компонентів. Метою дослідження є розробка методів аналізу меду ліофілізованого.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження є мед натуральний порошкоподібний (субстанція), вперше отриманий на кафедрі АТЛ Національного фармацевтичного університету. Зовнішній вигляд визначали візуально на матово-білому фоні при денному світлі без використання приладів для збільшення. Ідентифікацію проводили за наявністю інвертованих

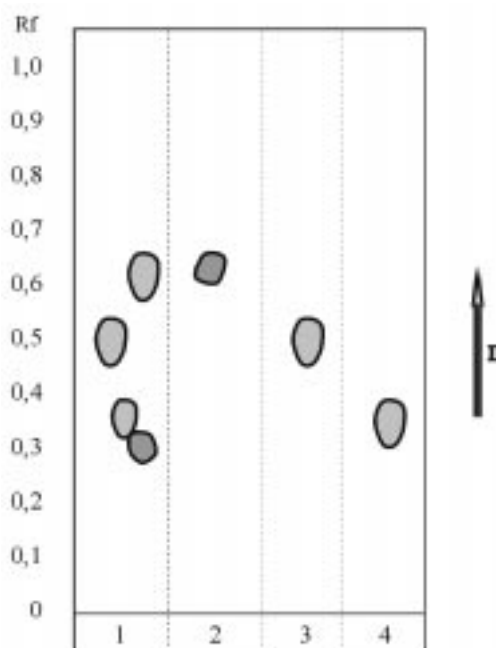


Рис. 1. Схема одномоірної тонкошарової хроматограми виявлення інвертованих цукрів у системі розчинників вода — ацетонітрил (13:87)

- 1) Випробований розчин меду ліофілізованого;
- 2) розчин фруктози;
- 3) розчин глюкози;
- 4) розчин цукрози.

цукрів. Аналіз проводили за допомогою фізико-хімічних методів європейської фармакопеї. Для ідентифікації інвертованих цукрів та сахарози використовували методику тонкошарової хроматографії (ТШХ). Дослідження проводились методом ТШХ на пластинках Sorbfil силікагель СТХ — 1А із товщиною шару 110 мкм у системі розчинників вода : ацетонітрил (13:87). Проявник: 2 г дифеніламіну і 2 г аніліну, розчинені у 100 мл ацетону. Для контролю розташування зон цукрів на хроматограмі та детального їх описання були взяті такі мітчики із підходящими Rf: глюкоза, фруктоза та сахароза. Брали 0,5 г фруктози, 0,5 г глюкози та 0,1 г сахарози. Кожний мітчик розчиняли в 50 мл етанолу. Наважку субстанції 0,5 г також розчиняли у 50 мл етанолу, наносили на лінію старту пластинки мікропіпеткою кожний розчин у вигляді смуги завширшки 1 см. Хроматографічну пластинку поміщали в камеру, яку заздалегідь насичували протягом не менше 24 год сумішшю розчинників, і хроматографували висхідним способом. Пластинку виймали з камери, сушили на повітрі 5 хв, потім обробляли проявником та нагрівали до температури 100-105°C упродовж 5-10 хв. Пластинку дивились при денному світлі.

Кількісне визначення інвертованих цукрів. Метод засновано на вимірюванні оптичної густини розчину кислоти 2,4-динітросаліцилової після її реакції з інвертованими цукрами меду ліофілізованого за довжиною хвилі 440 нм у кюветі з товщиною жару 10 мм. Для розрахунку кількості вмісту

інвертованих цукрів використовували калібрувальний графік, побудований з використанням водного розчину стандартного зразка глюкози [1, 12].

Визначення діастазного числа. Метод засновано на колориметричному визначенні кількості субстрату, розщепленого в умовах проведення ферментативної реакції, і подальшому обчисленні діастазного числа [1], яке характеризує активність амілолітичних ферментів меду. Його виражають кількістю кубічних сантиметрів розчину крохмалю масовою часткою 1%, які розкладаються за 1 год амілолітичними ферментами, що містяться в 1 г меду ліофілізованого. 1 мл Розчину крохмалю відповідає одиниці активності. Оптичну густину вимірюють на фотоелектроколориметрі проти води при світлофільтрі з довжиною хвилі 582 або 590 нм, використовуючи кювету з робочою довжиною 10 мм. Колориметруючи розчини, визначають значення оптичної густини випробовуваного розчину ($D_{\text{вип}}$) і контрольного ($D_{\text{к}}$) з точністю відліку 0,001. Діастазне число меду (X) в перерахунку на 1 г безводної речовини обчислюють за формулою:

$$X = \frac{(D_{\text{к}} - D_{\text{вип}}) \cdot 100 \cdot 80}{D_{\text{к}} \cdot (100 - W)},$$

де: $D_{\text{к}}$ — оптична густина розчину, визначена в контрольному досліді;

$D_{\text{вип}}$ — оптична густина випробовуваного розчину;

80 — коефіцієнт перерахунку;

W — масова частка води у меді, %.

За остаточний результат випробування приймають середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень. Розбіжності між результатами паралельних визначень, що допускаються, не повинні перевищувати 0,5 одиниць Готе в інтервалі величин менше 10 одиниць [1].

Реакція на оксиметилфурфурол. Метод заснований на утворенні у кислому середовищі сполуки оксиметилфурфуролу з резорцином, забарвленої у вишнево-червоний колір. У сухій фарфоровій ступці ретельно перемішуємо товкачиком протягом 2-3 хв близько 3 г меду ліофілізованого та 15 мл ефіру. Ефірну витяжку переносимо в суху фарфорову чашку і повторюємо перемішування меду з новою порцією ефіру. Ефірні витяжки об'єднуємо і даємо ефіру випаруватися під тягою при температурі не вище 30°C, до залишку додаємо 2-3 краплі розчину резорцину. Поява рожевого або помаранчевого кольору протягом 5 хв свідчить про наявність оксиметилфурфуролу [2, 10].

Дослідження вологопоглинання. Наважку субстанції (0,3000 г) брали у бюксі на аналітичних терезах, поміщали в ексікатор, в якому створювалась вологість 100% за допомогою води дистильованої. Бюкс зважували кожні дванадцять годин впродовж трьох діб. Вологість меду ліофілізованого визначали за різницею мас бюксів.

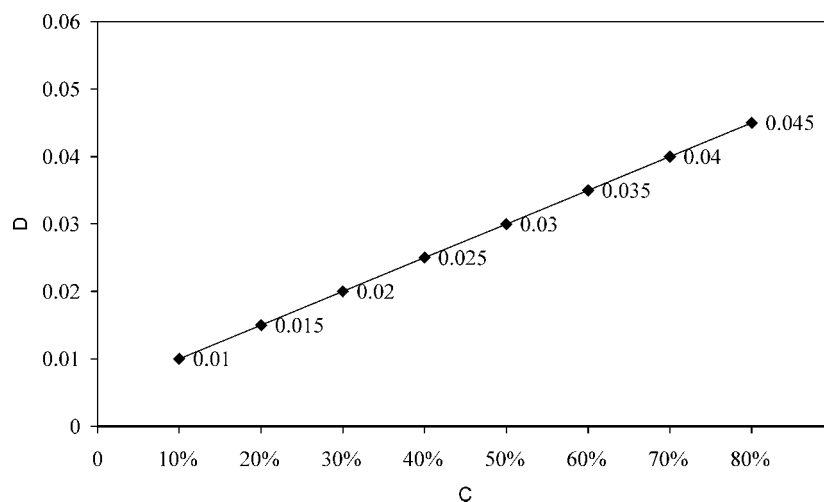


Рис. 2. Залежність оптичної густини (D) від концентрації (C) глюкози.

Таблиця 1

Метрологічна характеристика середнього результату кількісного визначення інвертованих цукрів

X_i	\bar{X}	S^2	\bar{S}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε , %
73,0	75,4	2,3	0,678	0,95	2,78	75,4±1,8	2,50
75,0							
76,0							
76,0							
77,0							

Результати та їх обговорення

Результати досліджень зі встановлення вмісту інвертованих цукрів та сахарози. Хроматографічним аналізом було підтверджено наявність фруктози глюкози та сахарози у меді ліофілізованому. На основі проведених досліджень пропонується такий опис хроматограми (рис. 1). На хроматограмі випробуваного розчину меду близько рівня зони фруктози знаходиться інтенсивна коричнева зона (фруктоза, $R_f = 0,61$). Під нею інтенсивна сірувато-блакитна зона (глюкоза, $R_f = 0,5$), ще

нижче 2 коричневі зони — це сахароза, $R_f = 0,36$ та $R_f = 0,29$. При розробці методики ідентифікації положення зон глюкози, фруктози та сахарози на хроматограмі наведені з літературних даних [8].

Кількісне визначення інвертованих цукрів у меді ліофілізованому проводили у перерахунку на глюкозу за калібрувальним графіком (рис. 2). На основі проведених досліджень на різних серіях меду встановлено, що вміст інвертованих цукрів у субстанції складає (від 73% до 77%) близько 75% (табл. 1), тому пропонуємо регламентувати суму

Таблиця 2

Порівняльна характеристика фізико-хімічних показників меду натурального та меду ліофілізованого

Показник	Характеристика меду	
	натурального	ліофілізованого
Аромат	Приємний, від слабкого до сильного, без стороннього запаху	Приємний, сильний, без стороннього запаху
Смак	Солодкий, приємний, без стороннього присмаку	Солодкий, приємний, без стороннього присмаку
Масова частка води, %	< 21	< 0,36
Масова частка інвертованих цукрів (до безводного залишку), %	> 80	> 75
Діастазне число (до безводного залишку), од. Готе	> 7	> 7
Якісна реакція на оксиметилфурфурол	негативна	негативна
Механічні домішки	не допускаються	не допускаються

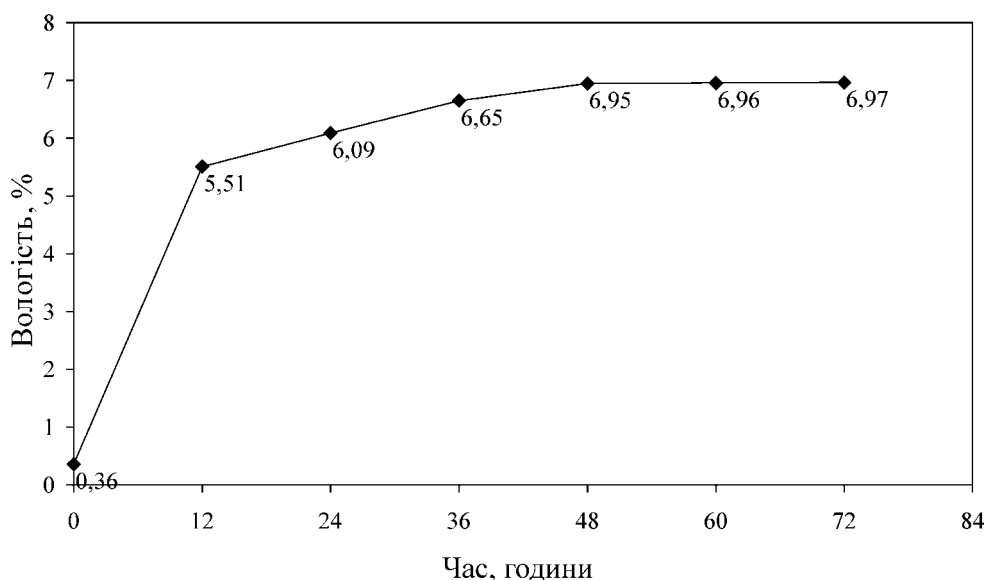


Рис. 3. Залежність вологості меду ліофілизованого від часу при відносній вологості повітря 100%.

інвертованих цукрів у перерахунку на глюкозу не менше 70%.

Діастизна активність склала 7 одиниць Готе — це середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень. Якісна реакція на оксиметилфурфурол виявилась негативною (табл. 2).

У процесі зберігання значно збільшується вологовміст субстанції. Підвищення вологовмісту може призвести до зміни фізико-хімічних властивостей лікарської форми як при одержанні, так і у процесі її зберігання. На рис. 3 наведена залежність вологопоглинання меду ліофілизованого від часу при вологості повітря 100%. Встановлено, що протягом однієї доби спостережень агрегатний стан субстанції значно змінився від порошку до прозорої рідини, яка має коричневий колір та не придатна для подальшого використання. Приріст вологи в досліджуваних зразках склав 5,15% за дванадцять годин при відносній вологості зовнішнього середовища 100%. Отже мед ліофілізо-

ваний є дуже гігроскопічною речовиною, що підтверджує необхідність герметичної упаковки. Дослідження було спрямоване на вивчення питань, пов'язаних із фізико-механічними змінами під час зберігання субстанції.

ВИСНОВКИ

1. Проведено дослідження меду ліофілизованого. Доведено, що технологія його одержання забезпечує присутність інвертованих цукрів у субстанції та не змінює діастазну активність.

2. Вивчена можливість стандартизації субстанції меду ліофілизованого за вмістом інвертованих цукрів та наявністю відповідної кількості діастази.

3. Розроблена методика кількісного визначення інвертованих цукрів у субстанції методом фотоелектроколориметрії у перерахунку на глюкозу.

4. Методики включені до проекту аналітично нормативної документації на субстанцію меду ліофілизованого. Планується розробка складів і технологій твердих лікарських форм на основі цієї субстанції.

ЛІТЕРАТУРА

- ГОСТ 19792-87 на Мёд натуральний (технические условия). — М.: Изд-во стандартов, 1988. — 22 с.
- Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 338 с.
- Ніколаєнко А.М., Старцева Л.Д. // Матер. III з'їзду апітерпевтів України, 28-30 вересня 2006 р. — Х.: Вид-во НФаУ, 2006. — С. 182-185.
- Преображенский В. Очищение и лечение медом и продуктами пчеловодства. — Донецк: БАО, 2002. — 32 с.
- Хисматулина Н.З. Апитерапия. — Пермь: Мобиле, 2005. — 296 с.
- Bakier S. Struktura miodu skrystalizowanego. // Mat. XXXIX Naukowej Konfer. Pszczelarskiej, Pulawy. — 2002. — S. 95-97.
- Bakier S. Wlasciwosci mezomorficzne miodu pszczelego // Mat. XXXIX Naukowej Konfer. Pszczelarskiej, Pulawy. — 2002. — S. 88-90.
- European Pharmacopoeia, 4th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 1997 (Suppl. 2002). — P. 2946-2947.
- Horrobin D.F. // L. Reprod. Med. — 1983. — Vol. 28. — P. 465.
- Rowe T.G., Powell M.G. // Processing. — 1981. — Vol. 27, №6. — P. 23-27.
- Schepartz F.J. // Biochim. Biophys. Acta. — 1966. — Vol. 118. — P. 637-640.

12. Smiljanc D. // *Wrana i ishrana*. — 1984. — Vol. 25, №7-10. — P. 171-174.

УДК 638.16:54.03/.04:547.458.233.3

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕДА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО

А.И.Тихонов, А.Ю.Тимченко, В.П.Черненко

На основе проведенных исследований доказано, что метод получения меда лиофилизированного позволяет сберечь качественный и количественный состав меда натурального. Разработан метод тонкослойной хроматографии, на основании которого можно выявить наличие инвертных сахаров. Определено, что количество инвертных сахаров и диастазная активность меда лиофилизированного полностью совпадают с нормативными показателями, разработанными для меда натурального.

UDC 638.16:54.03/.04:547.458.233.3

THE STUDY OF THE PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF LIOPHILIZED HONEY

A.I.Tikhonov, A.Yu.Timchenko, V.P.Chernenko

On the basis of the research conducted it has been proven that the method of obtaining liophilized honey allows preserving the qualitative and quantitative composition of the natural honey. The thin-layer chromatography method has been developed with the help of which it is possible to reveal the presence of invert sugars. It has been determined that the amount of invert sugars and diastase activity of liophilized honey coincides fully with the normative indexes that are developed for natural honey.

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ

27-28 вересня 2007 року на базі Національного фармацевтичного університету (м. Харків) відбудеться науково-практичний семінар

“СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ ЕКСТЕМПОРАЛЬНОЇ РЕЦЕПТУРИ”

Реєстраційне посвідчення УкрІНТЕІ №534 від 16 липня 2006 року

Організатори:

- кафедра технології ліків;
- кафедра аптечної технології ліків

У межах науково-практичного семінару планується обговорення наступних питань:

- оптимізація технології екстемпоральних лікарських засобів;
- оптимізація виробничої функції аптек з урахуванням специфіки екстемпорального виготовлення лікарських засобів;
- матеріально-технічне забезпечення організації екстемпорального виготовлення лікарських засобів в умовах аптек;
- законодавче нормування виготовлення, стандартизації та контролю екстемпоральних лікарських засобів;
- організаційно-економічна та маркетингова підтримка розвитку виробничої функції аптек шляхом створення координаційної ради фахівців при Державній службі лікарських засобів і виробів медичного призначення МОЗ України;
- екстемпоральна рецептура як перспективний напрямок подальшого удосконалення лікарського забезпечення населення на підставі співпраці лікарів і провізорів.

Планується проведення пленарного засідання та круглого столу.

Адреса оргкомітету:

Оргкомітет семінару “Сучасні проблеми екстемпоральної рецептури”, кафедра технології ліків, кафедра аптечної технології ліків.

Вул. Блюхера, 4, м. Харків, Україна, 61168.

Телефон: (0572)67-91-82; 67-91-84;

e-mail: atl@urfa.kharkov.ua

Відповідальні: проф. Тихонов Олександр Іванович, проф. Ярних Тетяна Григорівна