

# РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕССНОЙ МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ИНУЛИНА

Н.А. Дьякова

Воронежский государственный университет (г. Воронеж)

## Development of express technique for preparing inulin

N.A. Dyakova

Voronezh State University (Voronezh, Russia)

### РЕЗЮМЕ

Инулин – востребованный в современной медицине, фармацевтики и пищевой промышленности природный растительный полифруктозан. Имеющиеся запатентованные технологии получения инулина отличаются малым выходом продукта и значительной длительностью. Целью исследования являлась разработка экспрессной методики выделения и количественного определения инулина из корней одуванчика лекарственного. Для ускорения процесса извлечения биологически активных веществ из корней одуванчика лекарственного, а также увеличения выхода инулина решено было использовать ультразвуковую ванну. Варьируя показателями процесса, удалось подобрать оптимальные условия экстрагирования инулина из корней одуванчика лекарственного в условиях обработки ультразвуком: измельченность сырья 0,2–0,5 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 40 минут, частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента 1 г на 10 мл. Также были подобраны оптимальные условия очистки полисахаридного комплекса корней одуванчика лекарственного с получением чистого инулина. Предлагаемый способ позволяет интенсифицировать процесс получения инулина из корней одуванчика лекарственного и снизить время, расходуемое на него, до 6–7 часов, а также увеличить выход продукта до 22,36 % в пересчете на абсолютно сухое сырье. Методика может быть использована для экспрессного анализа качества корней одуванчика лекарственного, а также при промышленном получении инулина из данного вида сырья.

**Ключевые слова:** инулин, водорастворимые полисахариды, ультразвук, одуванчик лекарственный.

### RESUME

Inulin is a natural plant polyfructosan, the importance of which in modern medicine and pharmacy, as well as the food industry, is difficult to overestimate. Having patented technologies for producing inulin, they are characterized by low product yield and significant duration. The aim of the study was to develop an express method for isolating and quantifying inulin from the roots of dandelion medicine. To accelerate the process of extracting biologically active substances from the roots of dandelion medicine, as well as increasing the yield of inulin, it was decided to use an ultrasonic bath. Varying the process parameters, it was possible to select the optimal conditions for extracting inulin from the roots of the dandelion drug in ultrasound treatment conditions: grinding of the raw materials 0,2–0,5 mm, temperature – 80 °C, extraction rate – 3, extraction duration – 40 minutes, ultrasound frequency – 35 kHz, ratio of raw materials to extractant 1 g per 10 ml. The optimal conditions for purification of the polysaccharide complex of dandelion roots of the drug to obtain pure inulin were also selected. The proposed method allows intensifying the process of inulin production from dandelion roots and reducing the time spent on it to 6–7 hours, as well as increasing the product yield to 22,36 % in terms of absolutely dry raw materials. The procedure can be used for express analysis of the quality of dandelion roots of medicinal, as well as in industrial production of inulin from this kind of raw material.

**Keywords:** inulin, water-soluble polysaccharides, ultrasound, dandelion medicinal.

### ВВЕДЕНИЕ

Одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* F.H.Wigg.) – многолетнее, повсеместно встречающееся в европейской части России, в частности в Воронежской области, травянистое растение высотой около 30–40 см с маловетвистым стержневым корнем длиной

около 50–60 см. Корни одуванчика издавна используются в медицине в качестве желчегонного, спазмолитического, послабляющего, противоопухолевого, противомикробного, противогрибкового, противовирусного, противопаразитарного, антидиабетического средства, улучшающего аппетит и пищеварение. Широ-

кое применение обусловлено богатым химическим составом данного вида лекарственного растительного сырья, основу которого составляют полисахариды (до 44 % инулина), моносахариды (фруктоза, глюкоза), тритерпеноиды, сесквитерпеноиды, каучук, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, лактоны (тараксозид), дубильные вещества, жирное масло, стеролы, органические кислоты, витамины, макро- и микроэлементы [1–5].

Инулин – востребованный в современной медицине, фармации и пищевой промышленности природный растительный полифруктозан. Он является активным сорбентом, способным выводить из организма человека различные токсины – от тяжелых металлов, радионуклидов до излишков липопротеинов низкой плотности. Инулин обладает пребиотическими свойствами, способствуя быстрому восстановлению нормофлоры кишечника, а также проявляет прокинетическую, иммуномодулирующую, гепатопротекторную активность. На основе инулина производится большое количество лекарственных препаратов и биологически активных добавок, в том числе отечественных [6, 7].

Инулин получают исключительно из растительных объектов путем экстракции водой с последующей очисткой. Имеющие запатентованные технологии получения инулина отличаются малым выходом продукта и значительной длительностью, экстракция сырья занимает до 3–5 суток [8, 9]. Основные промышленные источники инулина на сегодняшний день – специально выращиваемое сырье – корни цикория (до 40 % инулина), клубни топинамбура (до 18 % инулина). При этом получаемый из цикория инулин имеет противопоказания. Широко известны и другие источники инулина, в частности такие доступные растительные объекты, обладающие значительными сырьевыми запасами на территории Российской Федерации, как одуванчик лекарственный [1, 10, 11].

Высокоэффективным методом ускорения процесса экстракции является способ, основанный на использовании механических колебаний ультразвукового диапазона. Установлено, что ультразвуком частотой 20–40 кГц можно экстрагировать кумарины, антоцианы, фенольные гликозиды из растений с сокращением процесса экстракции на 1–2 порядка [12]. При этом отмечается не только значительное ускорение процесса выделения из растительного сырья биологически активных веществ, но и увеличение выхода основного продукта [11, 13].

**Цель исследования:** разработка экспрессной методики получения инулина из корней

одуванчика лекарственного с использованием ультразвуковой ванны.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для интенсификации процесса извлечения водорастворимых полисахаридов (ВРПС) применяли ультразвуковую ванну «Град 40-35». В качестве экстрагента использовали воду очищенную, остальные параметры процесса подбирались экспериментально.

При разработке методики использовали корни одуванчика лекарственного, заготовленные в Аннинском районе Воронежской области в начале мая 2016 года в естественной биоценозе, вдали от автомобильных дорог, промышленных предприятий и прочих объектов хозяйственной деятельности, соблюдая все фармакопейные правила заготовки и сушки данного вида лекарственного растительного сырья [14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Изначально подбирались оптимальные условия извлечения из корней одуванчика лекарственного суммы ВРПС с использованием ультразвуковой ванны. Экспериментально подбирались температурный режим экстрагирования, измельченность сырья, длительность и кратность экстракции, соотношение сырья и экстрагента, частота ультразвуковых волн. Каждый эксперимент повторяли трижды. Результаты определений приведены в табл. 1, 2, 3.

Оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней одуванчика лекарственного в условиях ультразвуковой ванны таковы: измельченность сырья 0,2–0,5 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 40 минут, частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента 1 г на 10 мл [11].

Получаемый после осаждения водорастворимых полисахаридов этанолом осадок содержит примеси пектина, некоторых пигментов, некоторые органические кислоты. Для удаления пектинов решено было после растворения полученного осадка ВРПС в воде провести взаимодействие с солью кальция, а для очистки от пигментов – с мелкодисперсным алюминия оксидом [15]. После фильтрования полученного осадка примесей под вакуумом оставшиеся примеси решено было удалить путем пропускания раствора через колонки катионита и анионита, для чего были выбраны ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17-8 и катионитом в водородной форме КУ-2-8.

Таблица 1

**Содержание ВРПС (в пересчете на абсолютно сухое сырье, %) в корнях одуванчика лекарственного при варьировании измельченностью сырья и температурой ультразвуковой ванны (при трехкратной экстракции по 40 минут с соотношением сырья и экстрагента 1 г на 10 мл и частотой ультразвука 35 кГц)**

| Температура, °С | Измельченность сырья, мм |              |              |
|-----------------|--------------------------|--------------|--------------|
|                 | 0,2–0,5                  | 0,5–1,0      | 1,0–2,0      |
| 60              | 18,39 ± 0,41             | 14,37 ± 0,41 | 12,03 ± 0,42 |
| 70              | 23,29 ± 0,38             | 20,81 ± 0,59 | 17,19 ± 0,39 |
| 80              | 32,89 ± 0,32             | 27,74 ± 0,38 | 21,37 ± 0,31 |

Таблица 2

**Содержание ВРПС (в пересчете на абсолютно сухое сырье, %) в корнях одуванчика лекарственного при варьировании кратностью и длительностью экстрагирования (при измельченности сырья 0,2–0,5 мм, температуре ультразвуковой ванны 80 °С с соотношением сырья и экстрагента 1 г на 10 мл и частотой ультразвука 35 кГц)**

| Длительность экстракций, мин. | Кратность экстракции |              |              |
|-------------------------------|----------------------|--------------|--------------|
|                               | 1                    | 2            | 3            |
| 30                            | 12,34 ± 0,36         | 19,39 ± 0,52 | 25,45 ± 0,43 |
| 40                            | 16,95 ± 0,37         | 23,63 ± 0,41 | 32,89 ± 0,32 |
| 50                            | 17,17 ± 0,46         | 24,54 ± 0,47 | 29,42 ± 0,42 |

Таблица 3

**Содержание ВРПС (в пересчете на абсолютно сухое сырье, %) в корнях одуванчика лекарственного при варьировании соотношением сырья и экстрагента и частотой ультразвука (при трехкратной экстракции по 40 минут, температуре ультразвуковой ванны 80 °С, измельченности сырья 0,2–0,5 мм)**

| Соотношение сырья и экстрагента (г:мл) | Частота ультразвука, кГц |              |              |
|----------------------------------------|--------------------------|--------------|--------------|
|                                        | 15                       | 25           | 35           |
| 1:5                                    | 10,65 ± 0,34             | 14,63 ± 0,41 | 16,74 ± 0,58 |
| 1:10                                   | 23,74 ± 0,27             | 29,52 ± 0,21 | 32,89 ± 0,32 |
| 1:15                                   | 25,60 ± 0,40             | 24,38 ± 0,37 | 27,09 ± 0,52 |

Таблица 4

**Метрологические характеристики методики количественного определения инулина в корнях одуванчика лекарственного**

| N  | f | X     | S <sup>2</sup> | S      | S <sub>x</sub> | P, % | t <sub>(P,f)</sub> | Δx   | ε, % |
|----|---|-------|----------------|--------|----------------|------|--------------------|------|------|
| 10 | 9 | 22,36 | 0,0055         | 0,0744 | 0,0304         | 95   | 2,2622             | 0,19 | 1,64 |

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

Комплекс проведенных экспериментальных работ дает возможность предложить следующую методику выделения и последующего количественного гравиметрического определения инулина в корнях одуванчика лекарственного. Аналитическую пробу сырья измельчают до частиц размера 0,5–1,0 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в

колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл воды очищенной, нагретой до температуры кипения, помещают в ультразвуковую ванну с частотой 35 кГц при температуре 80 °С, экстрагируют 15 мин. Экстракцию повторяют ещё 2 раза, прибавляя по 15 мл воды. Водные извлечения объединяют и фильтруют через 3 слоя марли с подложенным тампоном ваты, вложенные в стеклянную воронку диаметром 5 см. Осаждение проводят троекратным количеством 95 %-ного этилового спирта, перемешивают, охлаждают в морозильной камере при температуре -18 °С в течение 1 часа. Затем содержимое колбы фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный

беззольный бумажный фильтр, проложенный в стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом при остаточном давлении 0,4–0,8 атм. Полученный осадок растворяют в 10 мл нагретой до 80 °С воде очищенной, добавляют 5 капель 50% раствора кальция хлорида и 0,5 г мелкодисперсного порошка алюминия оксида, выдерживают 20 мин, затем фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 0,4–0,8 атм. Полученный фильтрат последовательно пропускают через ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17-8 и катионитом в водородной форме КУ-2-8 с учетом емкости ионообменных смол до рН элюата 6,5–7,5 и степени чистоты инулина, равной 97 %. Для осаждения инулина к элюату вновь добавляют трехкратное количество 95%-ного этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре –18 °С в течение 1 часа, фильтрование осадка проводят через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4–0,8 атм. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора 95 %-ного этилового спирта в очищенной воде (3:1), 10 мл смеси этилацетата и 95 %-ного этилового спирта (1:1). Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100–105 °С до постоянной массы.

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

$$X = (m_1 - m_2) \times 100 \times 100 / m \times (100 - W),$$

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

Данный способ позволяет интенсифицировать процесс получения инулина из корней одуванчика лекарственного и снизить время, расходуемое на него, до 6–7 часов, а также увеличить выход продукта до 22,36 % [17].

Метрологические характеристики приведены в табл. 4. Относительная ошибка предлагаемой методики при доверительной вероятности 95 % составляет 1,64 %.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана экспрессная методика выделения и количественного определения инулина из корней одуванчика лекарственного, которая может быть использована при контроле качества данного вида сырья и промышленном получении инулина. Подобраны оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней одуванчика лекарственного: измель-

ченность сырья – 0,2–0,5 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 40 минут, частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента 1 г на 10 мл. Также были подобраны оптимальные условия очистки полисахаридного комплекса корней одуванчика лекарственного, которые сводятся к осаждению пектинов солями кальция, абсорбции пигментов алюминия оксидом, с последующим пропусканием экстракта через ионообменные колонки. Предлагаемая методика позволяет интенсифицировать процесс получения инулина из корней одуванчика лекарственного и снизить время, расходуемое на него до 6–7 часов, а также увеличить выход продукта до 22,36 % в пересчете на абсолютно сухое сырьё.

Исследования выполнены при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых (проект МК-1177.2021.3).

### ЛИТЕРАТУРА

- Орозбаева, Ж.М. Определение химического состава одуванчика лекарственного / Ж.М. Орозбаева, Т.К. Аманкулова // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. – 2018. – №4. – С.7–9.
- Чистова, Ю.И. Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот в экстракте сбора одуванчика лекарственного травы и лопуха большого листа сухом / Ю.И. Чистова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – Т.18. №1. – С.170–176.
- Лавшук, В.В. Влияние ультразвука на эффективность экстракции гидроксикоричных кислот из одуванчика лекарственного корней / В.В. Лавшук, Р.И. Лукашов // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2019. – №4. – С.199–203.
- Захаров, В.Л. Содержание биологически активных веществ в корнях лекарственных травянистых растений / В.Л. Захаров, Т.А. Кудашкина, В.И. Жихорева // Агропромышленные технологии Центральной России. – 2018. – №3(9). – С.8–15.
- Куркин, В.А. Фитохимическое исследование надземной части одуванчика лекарственного / В.А. Куркин, А.В. Азнагулова // Химия растительного сырья. – 2017. – №1. – С.99–105.
- Кароматов, И.Д. Лечебные свойства лекарственного растения одуванчик / И.Д. Кароматов, М.С. Давлатова // Биология и интегративная медицина. – 2018. – №9(26). – С.145–164.
- Куркин, В.А. Фармакогнозия / В.А. Куркин. – Самара: СамГМУ, 2004. – 1180 с.
- Патент 2351166 (РФ). Способ получения инулина из одуванчика лекарственного / Е.А. Струпан, О.А. Струпан. – 2009. – Бюл. №10. – 6 с.
- Патент 2360927 (РФ). Способ получения инулина из растительного сырья / Е.А. Струпан, О.А. Струпан. – 2009. – Бюл. №19. – 6 с.



10. Федосеева, Л.М. Установление технологических параметров сбора одуванчика лекарственного травы и лопуха большого листа / Л.М. Федосеева, Ю.И. Чистова // Бюллетень медицинской науки. – 2018. – №2(10). – С.37–41.

11. Development and validation of an express technique for isolation and quantitative determination of water-soluble polysaccharides from roots of *Taraxacum officinale* Wigg / N.A. Dyakova, A.I. Slivkin, S.P. Gaponov [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2018. – Vol. 52. No4. – pp. 343–346.

12. Молчанов, Г.И. Фармацевтические технологии: современные электрорфизические биотехнологии в фармации / Г.И. Молчанов, А.А. Молчанов, Л.М. Кубалова. – М.: Альфа-М, 2011. – 307 с.

13. Development and validation of an express method for assay of water-soluble polysaccharides in common burdock (*Arctium lappa* L.) roots / N.A. Dyakova, A.I. Slivkin, S.P. Gaponov [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2015. – Vol.49. No 9. – pp.620–623.

14. Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. Том 4. – М.: ФЭМБ, 2018. – 6228–6236 с.

15. Патент 2485958 (РФ). Способ получения инулина из инулинсодержащего растительного сырья, в частности из клубней топинамбура, для медицинских и пищевых целей / Т.И. Смирнова, А.К. Осербает, А.В. Алексеев, Е.Д. Малахаев, Д.С. Муравьев. – 2013. – Бюл. №18. – 9 с.

16. Исследование продуктов комплексной переработки топинамбура методом гелепроникающей и тонкослойной хроматографии / О.Б. Рудаков, С.А. Яровой, Г.Г. Соколенко, К.К. Полянский // Сорбционные и хроматографические системы. – 2010. – Т.10. №6. – С.916–922.

17. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера. – 2000. – 312 с.

#### Адрес автора

К.б.н. Дьякова Н.А., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии  
Ninotchka\_V89@mail.ru