

Рекомендована д.ф.н., професором Т.Г.Ярних

УДК 615.011:638.138.1

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИРОДНОЇ ЛІКАРСЬКОЇ СИРОВИНИ ПЕРГИ

В.Л.Бербек, О.І.Тихонов, О.М.Котенко, Т.В.Жукова

Національний фармацевтичний університет
Одеський державний університет

Вивчено фізико-хімічні властивості перги — природної лікарської сировини. Проведено кількісне визначення флавоноїдних сполук у дослідженій сировині та за допомогою кольорових і осадкових реакцій здійснено ідентифікацію основних біологічно активних сполук. За результатами досліджень розроблено проект технічних умов на природну сировину “Перга”.

Квітковий пилок (“обніжжя”) є унікальним природним продуктом, в якому сконцентровано величезну кількість біологічно активних речовин, що беруть участь у біохімічних процесах організму, у тому числі в обміні речовин. Пилок містить також безліч вітамінів (А, В₁, В₂, В₆, С, Е, К), білків, ніотинової, фолієвої кислоти, мінеральних речовин і мікроелементів (мідь, кобальт, залізо, марганець, фосфор, кремній, сірка, магній тощо) [7, 13].

Бджоли, збираючи квітковий пилок, переробляють його на продукт, який одержав назву “перга”, що є законсервованим медово-ферментним складом бджолиним обніжжям, складеним і утрамбованим бджолами в стільники, яке пройшло молочно-кисле бродіння [1, 7, 13].

На відміну від пилку вона містить менше білків і жирів, але натомість більше вуглеводів і молочну кислоту. Оскільки остання має антибактеріальні властивості, перга є продуктом тривалого зберігання. Також перга містить різні гормони, у тому числі “речовину росту” — гетероауксин.

У народній медицині квітковий пилок і перга часто застосовуються при лікуванні жіночої і чоловічої безплідності, анемії, шлунково-кишкових розладів (гастриту, коліту, запору, хвороби виразки шлунка і дванадцятипалої кишки), при серцево-судинних (гіпотонії, міокардиту, ішемічної хвороби і пороку серця) захворюваннях, патологіях внутрішніх органів (наприклад, печінки), а також при порушенні діяльності нервової і ендокринної систем [3-5].

Вона дає успішні результати при лікуванні деяких видів алергій, простатиту і чоловічої імпотенції, нормалізує стан при клімаксі.

Перга незамінна як тонізуючий засіб, вона сприяє відновленню фізичної і розумової працездатності при перевтомі. В медицині її часто застосовують як антитоксин, особливо під час прийому синтетичних лікарських препаратів. Також вона підсилює дію багатьох медикаментів, що при одночасному прийомі перги і антибіотиків дозволяє зменшити їх дозу та як результат їх токсичну дію на організм [5, 10, 13].

Бактерицидні властивості перги по відношенню до найрізноманітнішої патогенної мікрофлори з успіхом використовуються для прискорення загоєння ран і зменшення запальних процесів. Клінічні дослідження довели ефективність перги при гепатитах, атеросклерозі, неврозах, депресивних станах, безсонні, подагрі, аденомі простати. Також було з’ясовано, що перга чинить антиоксидантну дію та застосовується як протипухлинний засіб.

На жаль, також відзначені випадки серйозних алергічних реакцій на пергу, переважно серед людей з відзначеною алергією на пилок.

Перга і бджолине обніжжя завдяки своїм цілющим властивостям є перспективними для подальших і більш глибоких досліджень [6, 12, 13-15].

Метою нашої роботи було дослідження фізико-хімічних показників природної сировини перги.

Об’єкти та методи дослідження

Об’єктом дослідження були серії природної сировини перги.

При проведенні комплексу науково-дослідних робіт використовувалися прилади: спектрофотометр СФ-46. Визначення кількісного вмісту флавоноїдних сполук у спиртових екстрактах проводили методом спектрофотометрії з подальшою комп’ютерною обробкою результатів дослідження за допомогою програмного забезпечення “Спектр” для “Windows” [2, 8, 9]. Вимірювали оптичну густину розчину досліджуваних зразків сировини на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі (405±2) нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння екстракт без додавання хлористого алюмінію. УФ-спектри спиртового розчину в області від 390 до 420 нм мають максимум

поглинання при довжині хвилі (405 ± 2) нм і мінімум при довжині хвилі (390 ± 3) нм, що аналогічно УФ-спектру рутину стандарту.

Експериментальна частина та обговорення результатів

З метою контролю якості перги визначали органолептичні показники: колір, смак, запах та проводили перевірку на ушкодження восковою міллю (табл. 1) і визначали фізико-хімічні показники: рН, масову частку механічних домішок, вологовміст, окиснюваність, кількісний вміст флавоноїдних сполук, масову частку воску (табл. 2).

За органолептичними показниками перга — це м'які, злегка підсушені, рихлі грудочки від темно-жовтого до коричневого кольору кисло-солодкого з гіркотою смаку і характерним пилковим, медовим запахом (табл. 1).

Концентрацію водневих іонів (рН) 2% водного розчину перги (табл. 2) визначали потенціометричним методом відповідно до вимог ДФУ [2, 8, 9].

Визначення показника окиснюваність проводили за розробленою методикою відповідно до вимог ДФУ [2, 8, 9].

Наважку перги масою ($0,7000\pm 0,0001$) г поміщали в хімічний стаканчик місткістю 50 мл, наливали ($20,0\pm 0,01$) мл свіжопрокип'яченої і охолодженої води очищеної і перемішували впродовж 3-5 хв скляною паличкою; 2 мл розчину переносили в іншу хімічну склянку місткістю 50 мл і додавали ($1,00\pm 0,01$) мл розчину кислоти сірчаної 20%. Розчин перемішували плавними круговими рухами, додавали одну краплю ($0,035-0,045$ мл) розчину марганцевокислого калію 0,1 М і одночасно включали секундомір. При проведенні випробування контролюють температуру розчинів у межах $18^{\circ}\text{C}-22^{\circ}\text{C}$.

Час (секунди) зникнення рожевого забарвлення розчину, що підкислює, відповідає показнику окиснюваності (ПО). Результати дослідження наведені в табл. 2. Попередньо готували розчин марганцевокислого калію концентрації 0,1 моль/мл.

Таблиця 1

Органолептичні характеристики перги

Показники	Характеристики
Зовнішній вигляд	Грудочки різного розміру
Консистенція	М'які, злегка підсушені рихлі грудочки
Колір	Від темно-жовтого до коричневого
Смак	Кисло-солодкий з гіркотою
Запах	Характерний, пилковий, медовий
Ураженість восковою міллю	Не дозволено
Ураженість пліснявою	Не дозволено

У мірну колбу місткістю 1000 мл поміщають ($3,200\pm 0,001$) г марганцевокислого калію, розчиняють в 700-800 мл очищеної води, об'єм розчину доводять до мітки. Розчин переносять у темну склянку і витримують до 10-15 днів. Розчин придатний протягом 3 місяців.

Вміст суми флавоноїдних сполук (X) у досліджуваних зразках перги проводили за розробленою методикою відповідно до вимог ДФУ [2, 8, 9].

Метод заснований на визначенні спектрофотометрично оптичної щільності комплексів, що утворюються при взаємодії флавоноїдів, які входять до складу перги, з хлоридом алюмінію. В якості стандарту служить стандарт рутину.

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на рутин проводили в інтервалі довжини хвиль 390-420 нм.

Проведення досліджень починали з підготовки проби витяжки з перги 60% етанолом.

Спочатку ($3,000\pm 0,001$) г подрібненої перги зважують у конічну колбу місткістю 100 мл, додають ($30,0\pm 0,5$) мл 60% етанолу, колбу приєднують до зворотного холодильника і нагрівають на киплячій водяній бані впродовж 30 хв, періодично струшуючи для змиву часток перги зі стінок.

Таблиця 2

Фізико-хімічні характеристики перги

Показники	Характеристики перги, серії				
	10611	20611	30611	40611	50611
Масова частка механічних домішок, % — не більше 0,1	відсутні	$0,07\pm 0,01$	$0,05\pm 0,01$	$0,05\pm 0,01$	$0,08\pm 0,01$
Масова частка води, % — 5,0-8,0	$4,94\pm 0,15$	$5,92\pm 0,26$	$5,70\pm 0,23$	$5,90\pm 0,11$	$5,35\pm 0,21$
Показник окиснюваності, с — не більше 23,0	$2,13\pm 0,20$	$2,80\pm 0,25$	$2,48\pm 0,26$	$3,60\pm 0,10$	$3,20\pm 0,20$
Концентрація водневих іонів (рН) — від 3,5 до 5,0	$4,2\pm 0,1$	$3,8\pm 0,2$	$4,1\pm 0,1$	$4,4\pm 0,1$	$4,0\pm 0,2$
Кількісний вміст флавоноїдних сполук (у перерахунку на рутин), % — не менше* 0,5	$0,65\pm 0,05$	$0,75\pm 0,08$	$0,68\pm 0,06$	$0,85\pm 0,05$	$0,75\pm 0,04$
Масова частка воску, % — не більше* 5,0	$1,53\pm 0,05$	$2,10\pm 0,15$	$2,48\pm 0,12$	$3,68\pm 0,10$	$3,20\pm 0,20$

* Примітка: n = 5

Отриману надосадову рідину фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл так, щоб частки перги не потрапили на фільтр.

Екстракцію флавоноїдів повторюють ще двічі в описаних вище умовах, додаючи до залишку по (30,0±0,1) мл 60% етанолу. Фільтрати об'єднують, охолоджують до (20±3)°С і доводять до об'єму (100±0,01) мл 60% етанолом.

У дві мірні колби місткістю 25 мл дозатором вносять по (10,0±0,01) мл екстракту. В одну колбу (аналізований розчин) додають (4,0±0,1) мл розчину хлористого алюмінію, обидві колби доводять до мітки 60% етанолом і ретельно перемішують. Через 30 хв вимірюють оптичну густину аналізованого розчину відносно розчину порівняння (екстракт без хлористого алюмінію) в інтервалі 390-420 нм на довжині хвилі максимуму поглинання в кюветах з товщиною шару 1 см.

За попередньо побудованим калібрувальним графіком, за оптичною густиною аналізованого розчину знаходять кількість рутину в міліграмах у 25 мл розчину. Кількісний вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин (X), %, розраховують за формулою:

$$X = \frac{C \times 100 \times 100}{m \times 5 \times 1000} \times \frac{100}{(100 - W)},$$

де: С — кількість рутину в 25 мл, знайдена за калібрувальним графіком, мг; 100 — об'єм екстракту, мл; 100 — перерахунок в %; m — маса перги, взятої для аналізу, г; 5 — об'єм екстракту, взятого для аналізу, мл; 1000 — перерахунок мг в г.

Вміст суми флавоноїдних сполук у перерахунку (на рутин стандарт) повинен бути не менше 0,50%.

Приготування 5% розчину хлористого алюмінію в 60% етанолі. У конічну колбу місткістю 250 мл поміщають наважку (5,000±0,001) г хлористого алюмінію, розчиняють в (50,0±0,5) мл 60% етанолу, об'єм розчину доводять до (100,00±0,01) мл 60% етанолом і ретельно перемішують. Термін зберігання розчину — не більше року.

Таблиця 3

Якісний аналіз визначення БАР у зразках перги

Реакції та реактиви	Результати спостережень
На фенольні сполуки	
Ціанідинаова проба	Світло-жовте забарвлення
Ціанідинаова проба по Бріанту	Блідо-жовте забарвлення октанольного шару
5% розчин заліза окисного хлориду	Темно-коричневе забарвлення
10% спиртовий розчин натрію гідроксиду	Жовто-оранжеве забарвлення
Свинцю (II) ацетату основного розчин	Світло-жовтий осад
3% спиртовий розчин алюмінію (III) хлориду	Жовте забарвлення
На редуруючі цукри	
Реактив Фелінга	Жовтий осад
Резорцин у кислоті сірчаній концентрованій (фруктоза, глюкоза)	Жовте забарвлення, рожево-бурий осад
5% спиртовий розчин тимолу (фруктоза, глюкоза)	Червоне забарвлення
Проба Моліша (α-нафтол з кислотою сірчаною конц.)	На межі шарів утворюється буре кільце

Приготування розчину ДСЗ рутину (0,050±0,001) г. ДСЗ рутину зважують, кількісно переносять у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 40 мл 60% етанолу, нагрівають до 50-60°С і витримують до повного розчинення рутину. Потім охолоджують до кімнатної температури і доводять до позначки 60% етанолом і ретельно перемішують.

Як видно з результатів, наведених у табл. 2, рН водних витяжок перги має кисле середовище (діапазон від 4,0 до 5,0) та мало відрізняється від рН шлункового соку, тобто при вживанні внутрішньо сировина у складі твердої лікарської форми не буде викликати подразнення шлунково-кишкового тракту.

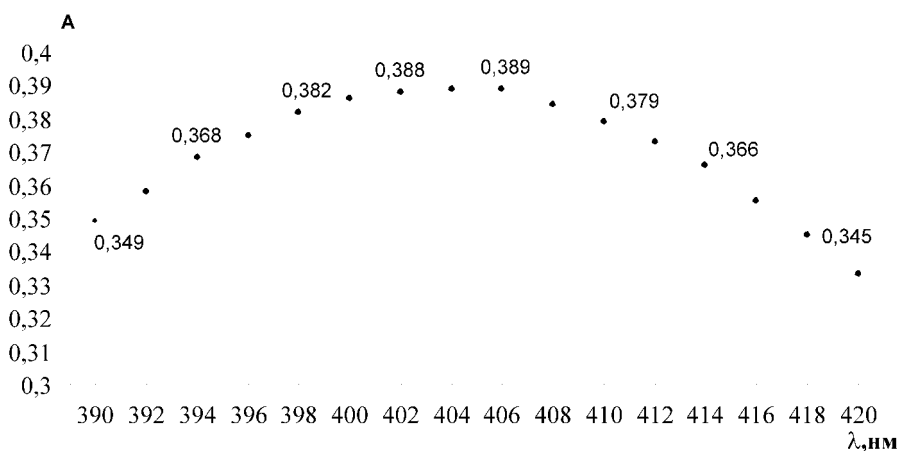


Рис. УФ-спектр поглинання спиртової витяжки перги.

Аналіз спектрів поглинання спиртового розчину перги (рис.) показує, що характер кривих ідентичний, максимум поглинання знаходиться при довжині хвилі 405 ± 2 нм. Кількісний вміст суми флавоноїдних сполук у спиртовій витяжці перги складає $0,64 \pm 0,05\%$.

Для визначення якісного складу біологічно активних сполук перги було проведено їх ідентифікацію (флавоноїдних сполук і редукуючих цукрів) за допомогою осадкових та кольорових якісних реакцій. Результати наведені в табл. 3.

Наявність флавоноїдних сполук підтверджували наступними реакціями: ціанідиною пробою по Бріанту, з 3% спиртовим розчином алюмінію (III) хлоридом, зі свинцю (II) ацетату основного розчином, з 10% спиртовим розчином натрію гідроксиду та 5% розчином заліза окисного хлориду. Результати якісних реакцій на фенольні сполуки наведені у табл. 3.

Проведені якісні реакції дали позитивні результати. Дані проведених досліджень дозволяють стверджувати, що природна сировина перга містить флавоноїдні сполуки, та підтверджують наявність редукуючих цукрів.

Отримані результати фізико-хімічних досліджень покладені в основу розробки проекту ТУ "ПЕРГА".

ВИСНОВКИ

1. Досліджені фізико-хімічні показники природної сировини "Перга".

2. Вивчено рН зразків перги різних серій.

3. Проведено за допомогою кольорових реакцій ідентифікацію основних біологічно активних речовин та кількісне визначення флавоноїдних сполук у дослідженій сировині.

4. За результатами досліджень розроблено проект технічних умов на природну сировину "Перга".

ЛИТЕРАТУРА

1. Вахонина Т.В. *Вопросы технологии производства меда и воска: Сб. науч. тр. НИИ пчеловодства. — Рыбное, 1985. — С. 149-160.*
2. *Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РИРЕГ, 2001. — 556 с.*
3. Касьяненко В.И., Комиссаренко И.А., Дубцова Е.А. / *Матер. Междунар. конф. "Пчеловодство — XXI век. Пчеловодство, апитерапия и качество жизни". Международная промышленная академия, 17-20 мая 2010 г. — М.: Пищепромиздат, 2010. — С. 81-82.*
4. Лиферов Р.А., Фомина В.А., Шишкина Л.А. и др. / *Матер. Междунар. конф. "Пчеловодство — XXI век. Пчеловодство, апитерапия и качество жизни". Международная промышленная академия, 17-20 мая 2010 г. — М.: Пищепромиздат, 2010. — С. 132.*
5. Мещанинов И.В., Пастух Е.В., Шишова И.Е. и др. / *Матер. Междунар. конф. "Пчеловодство — XXI век. Пчеловодство, апитерапия и качество жизни". Международная промышленная академия, 17-20 мая 2010 г. — М.: Пищепромиздат. — 2010. — С. 157-158.*
6. *Применение продуктов пчеловодства в народном хозяйстве / А.И.Тихонов, Л.И.Заикина // Б.И. — 1990. — 44 с.*
7. *Пыльца цветочная (обножка пчелиная) в фармации и медицине / А.И.Тихонов, К.Содзавичный, С.А.Тихонова и др. — Х.: Изд-во НФаУ; Оригинал, 2006. — 308 с.*
8. *British Pharmacopoeia (2005). Addendum 2005, Art. Syrups — Electronic complete / Ed. CD, London, The stationary office copyright, 2005.*
9. *European Pharmacopoeia, 5-th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2005. — 912 p.*
10. *Lecznicze dzialanie miodu pszczelego wchorobach wewnetrznych / Bogdan Kedzia, Elzbieta Hotderna-Kedzia. — MedPharm Polska, 2010. — 390 s.*
11. *Mrozowski T. // Zdorowa Medycyna. — 2003. — Vol. 7. — P. 24-25.*
12. *Mundo M.A., Padilla-Zakour O.I., Worobo R.W. // Int. J. Microbiol. — 2004. — Vol. 97. — P. 1-8.*
13. *Pylek kwiatowy obnoze pszczele w farmacji i medycynie. Teoria, technologia, zastosowanie lecznicze: monografia / A.I.Tichonow, K.Sodzawiczny, S.A.Tichonowa i wsp. Pod red. A.I.Tichonowa. — Krakow: Apipol-Pharma, 2008. — 274 s.*
14. *Sinjakov A.F. // Pczelowodstwo. — 2004. — Vol. 8. — P. 54-56.*
15. *Suamaru K., Ciu R., Li B. i wsp. // Clin. Pharmacol. — 2008. — Vol. 30. — P. 103-106.*

УДК 615.011:638.138.1

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИРОДНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ПЕРГИ

В.Л.Бербек, А.И.Тихонов, А.М.Котенко, Т.В.Жукова

Изучены физико-химические свойства перги — природного лекарственного сырья. Проведено количественное определение флавоноидных соединений в исследуемом сырье и при помощи цветных и осадочных реакций осуществлено идентификацию основных биологически активных соединений. По результатам исследований разработано проект технических условий на природное сырье "Перга".

UDC 615.011:638.138.1

THE PHYSICAL AND CHEMICAL RESEARCH OF THE NATURAL MEDICINAL RAW MATERIAL OF BEE-BREAD

V.L.Berbek, O.I.Tikhonov, O.M.Kotenko, T.V.Zhukova

The physical and chemical properties of bee-bread — the natural medicinal raw material have been studied. The quantitative determination of flavonoids in the raw material investigated has been conducted and with the help of coloured and sedimentation reactions the basic biologically active substances have been identified. According to the research results the project of technical requirements for the natural raw material "Bee-bread" has been worked out.