

УДК 615.322

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ КОРНЕЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА ОДНОЛЕТНЕГО

© *Н.А. Дьякова*

*Воронежский государственный университет, Университетская площадь,
1, Воронеж, 394006 (Россия), e-mail: Ninochka_V89@mail.ru*

Цель исследования – разработка и валидация экспрессной методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов из корней подсолнечника однолетнего. Для ускорения процесса извлечения биологически активных веществ из корней подсолнечника однолетнего, а также увеличения выхода водорастворимых полисахаридов, решено было использовать ультразвуковую ванну. Варьируя показателями процесса, удалось подобрать оптимальные условия экстрагирования водорастворимых полисахаридов корней подсолнечника однолетнего в условиях обработки ультразвуком: измельченность сырья – 0.5–1.0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 30 мин, частота ультразвука – 30 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 15 мл. Предлагаемая методика позволяет интенсифицировать процесс получения водорастворимых полисахаридов из корней подсолнечника однолетнего и снизить время, расходуемое на него, до 5–6 ч, а также увеличить выход продукта до 16.29% в пересчете на абсолютно сухое сырье. Разработанная методика прецизионна в условиях повторяемости, правильна, устойчива и обладает достаточно жесткой линейной зависимостью массы осадка от массы анализируемого сырья при гравиметрическом определении водорастворимых полисахаридов в корнях подсолнечника однолетнего. Методика может быть использована для экспрессного анализа качества корней подсолнечника однолетнего, а также при промышленном получении водорастворимых полисахаридов из данного вида сырья.

Ключевые слова: водорастворимые полисахариды, ультразвуковая ванна, корни подсолнечника однолетнего, *Helianthus annuus* L.

Введение

Подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L. (syn. *Helianthus aridus* Rydb., *Helianthus pumilus* Pers., *Helianthus macrocarpus* DC., *Helianthus erythrocarpus* Bartl., *Helianthus jaegeri* Heiser, *Helianthus multiflorus* Hook., *Helianthus ovatus* Lehm., *Helianthus petiolaris* hort. ex DC., *Helianthus lenticularis* Dougl., *Helianthus indicus* L., *Helianthus platycephalus* Cass., *Helianthus grandiflorus* Wender. ex Steud., *Helianthus tubaeformis* Nutt.)) – однолетнее травянистое растение рода Подсолнечник (*Helianthus*) семейства Астровые (*Asteraceae*), высотой до 2.5–5 м. Широко культивируется в средней полосе России, в частности, Центрально-Черноземном регионе, преимущественно с последующим получением из его семян масла. Плоды – продолговато-яйцевидные семянки с кожистым околоплодником – имеют длину 9–16 мм и содержат жирное масло (до 52%), белки (до 22%), углеводы (до 27%), фосфолипиды, полиненасыщенные жирные кислоты, стерины, витамины (E, PP). Получаемое из семян подсолнечника однолетнего масло используется для пищевых, а также технических (производство саломаса, маргарина, мыла, лакокрасочной продукции) нужд. Также семена применяются самостоятельно в пищу и в кондитерском деле (для получения халвы) [1–5].

Листья подсолнечника однолетнего сердцевидно-овальные с заостренными концами, длиной до 40 см, опушены. Цветки собраны в верхушечных крупных корзинках, диаметром 35–55 см. Краевые цветки язычковые, преимущественно бесплодные; внутренние – трубчатые, обоеполые, многочисленные (550–2500) [6–9]. Цветки и листья содержат флавоноиды (производные кверцетина), тритерпеновые сапонины, стерины (ситостеролин), кумарины (скополин), каротиноиды, фенолкарбоновые кислоты.

Дьякова Нина Алексеевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии,
e-mail: Ninochka_V89@mail.ru

Цветки и листья подсолнечника однолетнего в народной медицине используют для получения настойки, применяемой как жаропонижающее средство, и для повышения аппетита [10–13].

Подсолнечник однолетний имеет стержневую корневую систему, достигающую в длину 2–3 м и составляющую до 25–30% биомассы растения. Преимущественно корни подсолнечника однолетнего уходят в отходы сельскохозяйственных предприятий при возделывании данной культуры. При этом они отличаются богатым химическим составом и содержат водорастворимые полисахариды, основу которых составляет инулин, а также алкалоиды, органические кислоты, витамины группы Е, Д, К, А, В, большое количество эссенциальных макро- и микроэлементов (кальций, магний, фосфор, калий, железо, цинк, селен и др.) [13–16].

Корни подсолнечника однолетнего обладают противовоспалительным, желчегонным, мочегонным действиями, применяются при сахарном диабете, артрите, артрозе, желчекаменной и мочекаменной болезнях. Благодаря широкому спектру фармакологической активности корни подсолнечника однолетнего широко используются как лекарственное растительное сырье в виде отвара [17, 18]. Таким образом, в медицинской и фармацевтической практике используются водные извлечения из корней подсолнечника однолетнего, а фармакологический эффект обусловлен водорастворимыми соединениями, основу которых составляют водорастворимые полисахариды [15, 17].

Перспективным методом воздействия на лекарственное растительное сырье с целью интенсификации выделения разных биологически активных веществ, в том числе водорастворимых полисахаридов, является ультразвук частотой 15–35 кГц, что позволяет не только сократить процесс экстракции на 1–2 порядка, но и значительно увеличить выход основного продукта [19–22]. Использование ультразвука с частотой более 35 кГц приводит к гидролизу биологически активных веществ и в технологии фитопрепаратов не применяется [23–25].

Цель настоящего исследования – разработка экспрессной методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов из корней подсолнечника однолетнего методом ультразвуковой экстракции.

Экспериментальная часть

Для ускорения и увеличения полноты выхода ВРПС из корней подсолнечника однолетнего применяли ультразвуковую баню «Град 40-35», взвешивание проводили на аналитических весах «A&D GH-202», высушивание до постоянной массы – в воздушном стерилизаторе «Витязь ГП-40». В качестве экстрагента использовали воду очищенную. Измельченность сырья, температурный режим экстрагирования, кратность и длительность процесса экстракции, соотношение сырья и экстрагента, а также частота ультразвуковой бани подбирались экспериментально. Все определения проводили в трех повторностях. Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы «Microsoft Excel» при доверительной вероятности 95%.

При разработке и валидации методики использовали сырье, заготовленное в августе 2020 г. в Борисоглебском районе Воронежской области в агроценологических условиях вдали от автомобильных дорог, промышленных предприятий и прочих объектов хозяйственной деятельности. Корни подсолнечника однолетнего выкапывали, очищали от земли, с центрального корня срезали нитевидные боковые корешки, расщепляли на более тонкие части диаметром не более 0.5 см, измельчали на кусочки по 1.0–1.5 см длиной, сушили теневым способом при хорошем проветривании.

Обсуждение результатов

Изначально были определены оптимальные условия извлечения из корней подсолнечника однолетнего ВРПС с использованием ультразвуковой ванны. Результаты эксперимента приведены в таблицах 1–3.

При анализе данных таблиц 1–3 отмечено, что увеличение времени экстракции при трехкратном извлечении в условиях ультразвуковой ванны приводит, очевидно, к деструкции ВРПС. Оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней подсолнечника однолетнего в условиях ультразвуковой ванны таковы: измельченность сырья – 0.5–1.0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 30 мин, частота ультразвука – 30 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 15 мл.

Таблица 1. Результаты количественного определения ВРПС в корнях подсолнечника однолетнего (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) при варьировании измельченностью сырья и температурой ультразвуковой ванны (при трехкратной экстракции по 30 мин с частотой ультразвука 35 кГц, соотношении сырья и экстрагента 1 г на 10 мл)

Температура, °С	Измельченность сырья, мм		
	0.2–0.5	0.5–1.0	1.0–2.0
60	5.76±0.32	6.29±0.34	5.15±0.35
70	12.09±0.30	13.10±0.40	10.26±0.41
80	14.31±0.28	15.74±0.32	13.59±0.35

Таблица 2. Результаты количественного определения ВРПС в корнях подсолнечника однолетнего (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) при варьировании длительностью экстракции и частотой ультразвука (при трехкратной экстракции, измельченности сырья 0.5–1.0 мм, температуре ультразвуковой ванны 80 °С, соотношении сырья и экстрагента 1 г на 10 мл)

Длительность экстракций, мин	Частота ультразвука, кГц		
	25	30	35
20	11.51±0.29	13.47±0.36	13.01±0.39
30	13.82±0.33	16.11±0.32	15.56±0.33
40	13.53±0.42	15.31±0.38	14.23±0.40

Таблица 3. Результаты количественного определения ВРПС в корнях подсолнечника однолетнего (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) при варьировании соотношением сырья и экстрагента и кратностью экстракции (при экстракции по 30 минут, измельченности сырья 0.5–1.0 мм, температуре 80 °С, частоте ультразвука 30 кГц)

Соотношение сырья и экстрагента (г : мл)	Кратность экстракции		
	1	2	3
1 : 10	6.05±0.41	9.03±0.37	11.25±0.28
1 : 15	8.08±0.36	12.39±0.39	16.29±0.29
1 : 20	7.12±0.33	11.81±0.40	15.60±0.41

Комплекс проведенных экспериментальных работ дает возможность предложить следующую методику выделения и количественного гравиметрического определения ВРПС корней подсолнечника однолетнего. 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 30 кГц при температуре 80 °С, экстрагируют 30 мин. Экстракцию повторяют еще 2 раза, прибавляя по 15 мл воды. Водные извлечения объединяют и фильтруют в мерную колбу вместимостью 50 мл через 3 слоя марли с подложенным тампоном ваты, вложенных в стеклянную воронку диаметром 5 см и предварительно промытой водой очищенной. Фильтр промывают водой и доводят объем раствора до метки (раствор А). 12.5 мл раствора А помещают в коническую колбу на 50 мл, прибавляют 37.5 мл 95% этилового спирта, перемешивают, охлаждают в морозильной камере при температуре -18 °С в течение 1 ч. 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. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора 95% этилового спирта в воде очищенной (3 : 1), 10 мл смеси этилацетата и 95% этилового спирта (1 : 1). Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100–105 °С до постоянной массы.

Содержание ВРПС в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по стандартной формуле

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 4 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

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, %.

Предлагаемый способ позволяет проводить получение ВРПС из корней подсолнечника однолетнего за 5–6 ч при выходе готового продукта до 16.29±0.29% в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Статистическая обработка результатов выделения и количественного определения ВРПС корней подсолнечника однолетнего по разработанной методике приведена в таблице 4 (где N – число повторностей, f – число степеней свободы, \bar{X} – среднее значение определяемой величины, S^2 – дисперсия, S – стандартное отклонение, S_x – стандартное отклонение средней величины, P – доверительная вероятность, $t(P,f)$ – критерий Стьюдента, Δx – полуширина доверительного интервала величины, ε – относительная ошибка среднего результата). Таким образом, относительная ошибка предлагаемой методики при доверительной вероятности 95% составляет 1.75%.

Для того чтобы предлагаемая методика заняла заслуженное место в системе обеспечения качества лекарственных средств, гарантируя достоверные и точные результаты анализа, проведена процедура ее предварительной валидации по прецизионности (повторяемости), правильности (точности), устойчивости и линейности [28].

Повторяемость методики определяли в условиях, при которых 6 независимых результатов измерений были получены одним методом, в одной лаборатории, одним исследователем, в пределах короткого промежутка времени (табл. 5) [28].

Статистическая обработка полученных результатов показала, что они достоверны при доверительной вероятности 95%, вычисленное значение величины относительного стандартного отклонения (RSD) – 1.20% не превышает критериев приемлемости – 2% [28], что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

При валидации методики на правильность (точность) (табл. 6) подготавливались модели для анализа, разводя соответствующим инертным разбавителем и получая, таким образом, смеси с 3 уровнями концентрации (1 : 1, 1 : 2, 1 : 4). В качестве инертного разбавителя использовался тальк. Для каждой из проб проведено 3 параллельных определения [28]. При этом за опорное значение содержания ВРПС в корнях подсолнечника однолетнего принималось среднее значение, полученное в предыдущем эксперименте – 16.28%.

Как следует из представленных в таблице 6 результатов, на всех трех уровнях концентраций анализируемых образцов получают сопоставимые результаты, а относительное стандартное отклонение, составившее 1.25%, не превышает 2.5%, что соответствует оптимальной величине RSD и позволяет считать методику правильной [28].

Устойчивость методики изучали по степени воспроизводимости результатов измерений, полученных при анализе одинаковых образцов при разных минимальных изменениях условий выполнения методики. Рассматривали стабильность приготовленных проб и степень влияния условий. Нами было получены извлечения из анализируемого сырья по валидируемой методике, которые в последующем хранились при комнатной температуре и в холодильнике. Гравиметрическое определение ВРПС проводилось сразу после экстрагирования, через 24 ч и через 72 ч [28]. Критерий приемлемости по данному показателю – относительное стандартное отклонение, составившее 0.83%, – не превышен (не более 1%), что позволяет считать методику устойчивой (табл. 7).

При валидации методики на линейность проводились 9 определений в диапазоне от 50 до 130% номинальной концентрации. Каждое определение выполнялось 1 раз. Расчеты велись с помощью «Excel 2007». Результаты приведены на рисунке и в таблице 8.

Показатель Slope (0.0033) является отражением чувствительности методики, y -intercept (-0.0149) – соответствует значению холостого опыта. Квадрат коэффициента корреляции линейной регрессии составил 0.9972, что не менее 0.99, что позволяет утверждать о наличии линейной зависимости массы осадка от массы сырья при гравиметрическом определении ВРПС в корнях подсолнечника однолетнего [28].

Таблице 4. Статистическая обработка результатов выделения и количественного определения ВРПС корней подсолнечника однолетнего

N	f	\bar{X}	S^2	S	S_x	P, %	$t_{(P,f)}$	Δx	ε , %
10	9	16.29	0.0159	0.1261	0.0399	95	2.2622	0.29	1.75

Таблица 5. Результаты оценки повторяемости методики

Номер анализа		1	2	3	4	5	6		
Содержание ВРПС, %		16.47	16.18	16.05	16.54	16.42	16.07		
Метрологические характеристики									
n	f	x	S	S_x	RSD, %	P, %	$t_{(P,f)}$	Δx	ε , %
6	5	16.28	0.1957	0.0799	1.20	95	2.570	0.50	3.08

Таблица 6. Результаты оценки правильности методики

Номер анализа	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Содержание сырья в пробе	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 2	1 : 2	1 : 2	1 : 4	1 : 4	1 : 4
Найдено ВРПС, %	16.09	16.13	16.03	16.33	16.49	16.44	16.51	16.46	16.58
Рассчитано ВРПС, %	16.28								
Открываемость (R), %	98.83	99.08	98.46	100.31	101.29	100.98	101.41	101.11	101.84
Метрологические характеристики	R _{cp} =100.37; SD=1.2592; RSD=1.25%								

Таблица 7. Результаты оценки устойчивости методики

Номер анализа	1	2	3	4	5	6			
Образец	Хранение в холодильнике			Хранение при комнатной температуре					
	После экстрагирования	Через 24 ч	Через 72 ч	После экстрагирования	Через 24 ч	Через 72 ч			
Содержание ВРПС, %	16.31	16.38	16.20	16.31	16.08	16.00			
Метрологические характеристики									
<i>n</i>	<i>f</i>	<i>x</i>	<i>S</i>	<i>S_x</i>	<i>RSD, %</i>	<i>P, %</i>	<i>t(P,f)</i>	<i>Δx</i>	<i>ε, %</i>
6	5	16.21	0.1353	0.0553	0.83	95	2.570	0.35	2.14

Зависимость массы осадка от массы корней подсолнечника однолетнего при гравиметрическом определении ВРПС

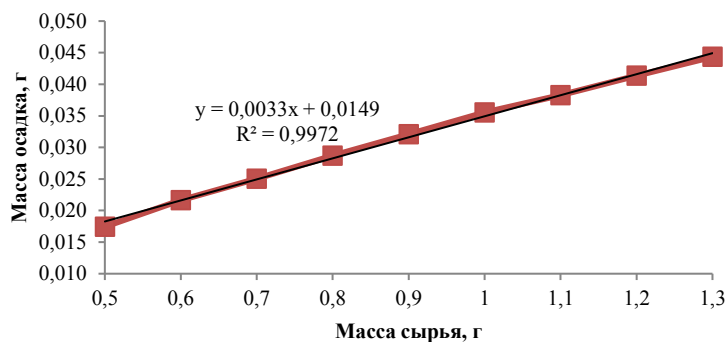


Таблица 8. Критерии оценки линейности методики

R ²	y-intercept	slope
0.9972	-0.0149	0.0033

Выводы

Разработана и валидирована экспрессная методика выделения и количественного определения ВРПС из корней подсолнечника однолетнего, которая может быть использована при контроле качества данного вида сырья и промышленном получении из него ВРПС, в частности, инулина. Подобраны оптимальные условия экстрагирования ВРПС из корней подсолнечника однолетнего в условиях ультразвуковой ванны: измельченность сырья – 0.5–1.0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 30 мин, частота ультразвука – 30 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 15 мл. Предлагаемая методика позволяет интенсифицировать процесс получения ВРПС из корней подсолнечника однолетнего и снизить время, расходуемое на него, до 4–5 ч, а также увеличить выход продукта до 16.29% в пересчете на абсолютно сухое сырье. Разработанная методика прецизионна в условиях повторяемости, правильна, устойчива и обладает достаточно жесткой линейной зависимостью массы осадка от массы анализируемого сырья при гравиметрическом определении ВРПС в корнях подсолнечника однолетнего.

Исследования выполнены при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (проект МК-1177.2021.3).

Список литературы

1. Путьрский И.Н., Прохоров В.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. М., 2000. 656 с.
2. Ковехова А.В., Земнухова Л.А., Арефьева О.Д. Неорганические компоненты плодовых оболочек подсолнечника // Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7. №3. С. 9–18. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-3-9-18.

3. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара, 2004. 1180 с.
4. Adetunji C.O., Olatunji O.M., Ogunkunle A.T.J., Adetunji J.B., Ogundare M.O. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Helianthus annuus* stem // SMU Medical Journal. 2014. Vol. 1(1). Pp. 79–88. DOI: 10.33448/rsd-v10i9.17941.
5. Ibrahim T.A., Ajongbolo K.F., Aladekoyi G. Phytochemical screening and antimicrobial activity of crude extracts of *Basella alba* and *Helianthus annuus* on selected food pathogens // RRJMB. 2014. Vol. 3(2). Pp. 27–31. DOI: 10.5219/1228.
6. Ngibad K. Effectiveness of the combination of ethanol extract of sunflower leaves (*Helianthus annuus*) and antinganting (*Acalypha indica* Linn) as an antimalarial in vivo // Journal of Galician Pharmacy. 2019. Vol. 5. N1. Pp. 12–19. DOI: 10.22487/j24428744.2019.v5.i1.11860.
7. Wiwied E. Various Parts of *Helianthus annuus* // Plants as New Sources of Antimalarial Drugs. 2019. 7390385. DOI: 10.1155/2019/7390385.
8. Лукашов Р.И., Жях А.В., Жаврид А.В. Антирадикальный эффект извлечений из подсолнечника однолетнего // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. 2019. №4. С. 223–228.
9. Соколова О.А., Котов А.Г., Гонтовая Т.Н., Котова Э.Э. Стандартизация сырья подсолнечника однолетнего по макро- и микроскопическим признакам для разработки проекта монографии Государственной фармакопеи Украины // Вестник фармации. 2018. №1 (79). С. 6–11.
10. Rakotoarivelo N.H., Rakotoarivony F., Ramarosandratana A.V. Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar // Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 2015. Vol. 11. N1. P. 68. DOI: 10.1186/s13002-015-0050-2.
11. Ejebe D.E., Emudainohwo J.O.T., Ozoko T.C., Siminalayi I.M., Esume C.O., Maduadi U.V. An investigation into the anti-plasmodial effect of the ethanol extract of the leaves of *Helianthus annuus* in Swiss albino mice // Global J. Pharmacology. 2011. Vol. 5(2). Pp. 92–96.
12. Павлиди М.Р., Коновалов Д.А. Сравнительное ВЭЖХ исследование фенольных соединений листьев подсолнечника однолетнего // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2014. №4 (52). С. 23–24.
13. Птушова И.В., Коновалов Д.А., Карпенко В.А., Лигай Л.В., Кулешова С.А. Фитохимическое и фармакогностиическое изучение корней подсолнечника однолетнего // Химия растительного сырья. 2014. №2. С. 189–194.
14. Волюнкина А.П. Клиническая эффективность лечения сахарного диабета 2 типа в сочетании с артериальной гипертензией включением в терапию масел на основе амаранта и подсолнечника: дисс. ... канд. мед. наук. Воронеж, 2008. 113 с.
15. Saini S., Sharma S. Antidiabetic effect of *Helianthus annuus* L., seeds ethanolic extract in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic mellitus // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2013. Vol. 5(2). Pp. 382–387.
16. Venkateswarlu K., Vijayabhaskar K., Krishna O.S., Devanna N., Chandra Sekhar K.B. Evaluation of anti-ulcer activity of hydro alcoholic extracts of *Abutilon indicum*, *Helianthus annuus* and combination of both against ethanol and pyloric ligation induced gastric ulcer in albino wistar rats // British Journal of Pharmaceutical Research. 2015. Vol. 5(1). Pp. 42–51. DOI: 10.9734/BJPR/2015/14386.
17. Dwivedi A., Sharma G.N., Kaushik A.Y. Evaluation of *Helianthus annuus* L. leaves extract for the anti-diarrheal and anti-histaminic activity // International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy. 2015. Vol. 6(1). Pp. 118–123. DOI: 10.7897/2277-4343.06125.
18. Ukleja-Sokolowska N., Gawrońska-Ukleja E., Zbikowska-Gotz M., Bartuzi Z., Sokolowski L. Sunflower seed allergy // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 2016. Vol. 29(3). Pp. 498–503. DOI: 10.1177/0394632016651648.
19. Патент №2712094 (РФ). Способ получения очищенного инулина из растительного сырья / Н.А. Дьякова, А.А. Мындра, А.И. Сливкин. – 2020.
20. Дьякова Н.А. Разработка и валидация экспресс-методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов листьев лопуха большого (*Arctium lappa* L.) // Химия растительного сырья. 2018. №4. С. 81–87. DOI: 10.14258/jcrpm.2018042195.
21. Молчанов Г.И., Молчанов А.А., Кубалова Л.М. Фармацевтические технологии: современные электрофизические биотехнологии в фармации. М., 2011. 307 с.
22. Дьякова Н.А., Сливкин А.И., Гапонов С.П., Михайловская И.Ю. Изучение динамики изменения содержания инулина в корнях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) и одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Webb.) в процессе вегетации // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2016. №4. С. 133–136.
23. Шушунова Т.Г., Дьякова Н.А., Сливкин А.И., Мальцев Е.А. Выделение инулина из корней одуванчика лекарственного с использованием ультразвука // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 6-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2016». Воронеж, 2016. С. 609–612.
24. Дьякова Н.А., Самылина И.А., Сливкин А.И., Гапонов С.П., Кукуева Л.Л., Мындра А.А. Разработка методики количественного определения водорастворимых полисахаридов и ее валидация // Современная фармация: проблемы и перспективы развития материалы V межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. 2015. С. 45–48.
25. Дьякова Н.А., Сливкин А.И., Самылина И.А., Гапонов С.П., Мындра А.А., Шушунова Т.Г. Разработка и валидация экспресс-методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов корней

- одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т. 52. №4. С. 40–43. DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-4-40-43.
26. Бондарчук С.С., Бондарчук И.С. Статобработка экспериментальных данных в MS Excel. Томск, 2018. 433 с.
27. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2000. 312 с.
28. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV изд. М, 2018. Т. 1. С. 267–288.

Поступила в редакцию 19 января 2022 г.

После переработки 20 мая 2022 г.

Принята к публикации 7 июля 2022 г.

Для цитирования: Дьякова Н.А. Разработка и валидация методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов из корней подсолнечника однолетнего // Химия растительного сырья. 2022. №4. С.59–66. DOI: 10.14258/jcprm.20220410906.

Dyakova N.A. DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHOD FOR ISOLATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES FROM SUNFLOWER ROOTS OF ONE-YEAR-OLD

Voronezh State University, Universitetskaya pl., 1, Voronezh, 394006 (Russia), e-mail: Ninochka_V89@mail.ru

The aim of the study was to develop and validate an express method for the isolation and quantitative determination of water-soluble polysaccharides from the roots of sunflower of a one-year-old. To accelerate the process of extracting biologically active substances from the roots of one-year-old sunflower, as well as increasing the yield of water-soluble polysaccharides, it was decided to use an ultrasonic bath. Varying the process parameters, it was possible to select the optimal conditions for extracting water-soluble polysaccharides of sunflower roots of one-year-old under ultrasound treatment conditions: crushing of raw materials 0.5–1.0 mm, temperature – 80 °C, extraction rate – 3, duration of extractions – 30 minutes, ultrasound frequency – 30 kHz, ratio of raw materials and extractant 1 g per 15 ml. The proposed technique allows intensifying the process of producing water-soluble polysaccharides from sunflower roots of one-year old and reducing the time spent on it to 5–6 hours, as well as increasing the product yield to 16.29% in terms of absolutely dry raw materials. The developed technique is precision in the conditions of repeatability, correct, stable and has a fairly rigid linear dependence of the mass of the sediment on the mass of the analyzed raw materials in gravimetric determination of water-soluble polysaccharides in the roots of sunflower of a one-year-old. The procedure can be used for express analysis of the quality of sunflower roots of one-year old, as well as in industrial production of water-soluble polysaccharides from this kind of raw material.

Keywords: polysaccharides water-soluble, ultrasonic bathtub, roots of a *Helianthus annuus* L.

References

1. Putyrskiy I.N., Prokhorov V.N. *Universal'naya entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy*. [Universal encyclopedia of medicinal plants]. Moscow, 2000, 656 p. (in Russ.).
2. Kovekhova A.V., Zemnikhova L.A., Aref'yeva O.D. *Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 9–18. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-3-9-18. (in Russ.).
3. Kurkin V.A. *Farmakognosiy*. [Pharmacognosy]. Samara, 2004, 1180 p. (in Russ.).
4. Adetunji C.O., Olatunji O.M., Ogunkunle A.T.J., Adetunji J.B., Ogundare M.O. *SMU Medical Journal*, 2014, vol. 1(1), pp. 79–88. DOI: 10.33448/rsd-v10i9.17941.

5. Ibrahim T.A., Ajongbolo K.F., Aladekoyi G. *RRJMB*, 2014, vol. 3(2), pp. 27–31. DOI: 10.5219/1228.
6. Ngibad K. *Journal of Galician Pharmacy*, 2019, vol. 5, no. 1, pp. 12–19. DOI: 10.22487/j24428744.2019.v5.i1.11860.
7. Wiwied E. *Plants as New Sources of Antimalarial Drugs*, 2019, 7390385. DOI: 10.1155/2019/7390385.
8. Lukashov R.I., Zhakh A.V., Zhavrid A.V. *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2019, no. 4, pp. 223–228. (in Russ.).
9. Sokolova O.A., Kotov A.G., Gontovaya T.N., Kotova E.E. *Vestnik farmatsii*, 2018, no. 1 (79), pp. 6–11. (in Russ.).
10. Rakotoarivelo N.H., Rakotoarivony F., Ramarosandratana A.V. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2015, vol. 11, no. 1, p. 68. DOI: 10.1186/s13002-015-0050-2.
11. Ejebe D.E., Emudainohwo J.O.T., Ozoko T.C., Siminalayi I.M., Esume C.O., Maduadi U.V. *Global J. Pharmacology*, 2011, vol. 5(2), pp. 92–96.
12. Pavlidi M.R., Konovalov D.A. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2014, no. 4 (52), pp. 23–24. (in Russ.).
13. Ptushova I.V., Konovalov D.A., Karpenko V.A., Ligay L.V., Kuleshova S.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2014, no. 2, pp. 189–194. (in Russ.).
14. Volynkina A.P. *Klinicheskaya effektivnost' lecheniya sakharnogo diabeta 2 tipa v sochetanii s arterial'noy gipertenziyey v klyucheniye v terapiyu masel na osnove amaranta i podsolnechnika: diss. ... kand. med. nauk.* [Clinical efficacy of the treatment of type 2 diabetes mellitus in combination with arterial hypertension by the inclusion of oils based on amaranth and sunflower in therapy: diss. ... cand. medical sciences]. Voronezh, 2008, 113 p. (in Russ.).
15. Saini S., Sharma S. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2013, vol. 5(2), pp. 382–387.
16. Venkateswarlu K., Vijayabhaskar K., Krishna O.S., Devanna N., Chandra Sekhar K.B. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 2015, vol. 5(1), pp. 42–51. DOI: 10.9734/BJPR/2015/14386.
17. Dwivedi A., Sharma G.N., Kaushik A.Y. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 2015, vol. 6(1), pp. 118–123. DOI: 10.7897/2277-4343.06125.
18. Ukleja-Sokolowska N., Gawrońska-Ukleja E., Zbikowska-Gotz M., Bartuzi Z., Sokolowski L. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 2016, vol. 29(3), pp. 498–503. DOI: 10.1177/0394632016651648.
19. Patent 2712094 (RU). 2020. (in Russ.).
20. D'yakova N.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 4, pp. 81–87. DOI: 10.14258/jcprm.2018042195. (in Russ.).
21. Molchanov G.I., Molchanov A.A., Kubalova L.M. *Farmatsevticheskiye tekhnologii: sovremennyye elektrofizicheskiye biotekhnologii v farmatsii.* [Pharmaceutical technologies: modern electrophysical biotechnologies in pharmacy]. Moscow, 2011, 307 p. (in Russ.).
22. D'yakova N.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P., Mikhaylovskaya I.Yu. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2016, no. 4, pp. 133–136. (in Russ.).
23. Shushunova T.G., D'yakova N.A., Slivkin A.I., Mal'tsev Ye.A. *Puti i formy sovershenstvovaniya farmatsevticheskogo obrazovaniya. Sozdaniye novykh fiziologicheskii aktivnykh veshchestv: Materialy 6-y Mezhdunarodnoy nauchno-metodicheskoy konferentsii «Farmobrazovaniye-2016».* [Ways and forms of improving pharmaceutical education. Creation of new physiologically active substances: Proceedings of the 6th International Scientific and Methodological Conference "Pharmaceutical Education-2016"]. Voronezh, 2016, pp. 609–612. (in Russ.).
24. D'yakova N.A., Samylina I.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P., Kukuyeva L.L., Myndra A.A. *Sovremennaya farmatsiya: problemy i perspektivy razvitiya materialy V mezhregional'noy nauchno-prakticheskoy konferentsii s me-zhdunarodnym uchastiyem.* [Modern Pharmacy: problems and development prospects Materials of the V interregional scientific and practical conference with international participation]. 2015, pp. 45–48. (in Russ.).
25. D'yakova N.A., Slivkin A.I., Samylina I.A., Gaponov S.P., Myndra A.A., Shushunova T.G. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2018, vol. 52, no. 4, pp. 40–43. DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-4-40-43. (in Russ.).
26. Bondarchuk S.S., Bondarchuk I.S. *Statobrabotka eksperimental'nykh dannykh v MS Excel.* [Statistical processing of experimental data in MS Excel]. Tomsk, 2018, 433 p. (in Russ.).
27. Rebrova O.Yu. *Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA.* [Statistical analysis of medical data. Application of the application package STATISTICA]. Moscow, 2000, 312 p. (in Russ.).
28. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii, XIV izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV ed.]. Moscow, 2018, vol. 1, pp. 267–288. (in Russ.).

Received January 19, 2022

Revised May 20, 2022

Accepted July 7, 2022

For citing: Dyakova N.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 59–66. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20220410906.