

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Кафедра фармакогнозії та ботаніки

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему:
**«ВИВЧЕННЯ ПЛОДІВ СМОРОДИНИ ЧЕРВОНОЇ СУБЛІМОВАНИХ
МЕТОДОМ ФРАКЦІОНУВАННЯ»**

Виконала: здобувач вищої освіти
6 курсу, групи 881А
22 Охорона здоров'я
226 «Фармація, промислова фармація»
(шифр і назва напрямку підготовки)
Фармація
(назва освітньої програми)
Бендюк Анна Сергіївна

Керівник: доктор фарм.наук, професор
Карпюк Уляна Володимирівна

Рецензент: кандидат фарм.наук, доцент
Афанасенко Ольга Вікторівна

Київ – 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	Ошибка! Закладка не определена.
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОПИС БОТАНІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК, ХІМІЧНИЙ СКЛАД РЕЧОВИН, ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ СМОРОДИНИ ЧЕРВОНОЇ. Ошибка! Закладка не определена.	
1.1. Короткий ботанічний опис рослини, поширення та заготівля .. Ошибка! Закладка не определена.	
1.1.1. Поширення.....	9
1.1.2. Корисні властивості смородини червоної	10
1.1.3. Заготівля.....	11
1.1.4. Зберігання	12
1.2. Промислове застосування та у медицині плодів смородини червоної. 13	
1.2.1. Застосування у медицині.....	14
1.2.2. Використання при виразці шлунка..... Ошибка! Закладка не определена.	
1.2.3. Використання при діабеті.....	15
1.2.4. Ефективність водних екстрактів червоної смородини у контролі росту деяких патогенних грибів та бактерій.....	16
1.3. Хімічний склад плодів смородини червоної	16
1.3.1. Культивування калюсу	18
1.3.2. Склад олії з насіння <i>Ribes rubrum</i>	19
1.3.3. Азотовмісні фітохімічні речовини, що сушать рот і в'яжуть, виділені із червоної смородини (<i>Ribes rubrum</i>).....	20

1.3.4. Клонування та експресія dfr (дигідрофлаванол-4-редуктази) у <i>Ribes rubrum</i> під час дозрівання плоду	20
1.3.5. Аналіз генів антоціанінового шляху в роді <i>Ribes</i> виявив ген MYB, який має високу ефективність в індукції антоціанінів.....	21
1.4. Метод висушування – сублімація. Використання методу для плодів <i>Ribes rubrum</i>	21
1.4.1. Метод сублімації плодів смородини червоної (<i>Ribes rubrum</i>).....	24
1.5. Метод фракціонування полісахаридів	25
Заключення	26
РОЗДІЛ 2. ОТРИМАННЯ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТА СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТУ.....	27
2.1. Отримання ліпофільних сполук.....	28
2.2. Отримання спиртового екстракту.....	30
РОЗДІЛ 3. ОТРИМАННЯ РІЗНИХ ФРАКЦІЙ ПОЛІСАХАРИДІВ	34
3.1. Одержання водорозчинних полісахаридів (ВРПС)	34
3.2. Одержання пектинових речовин (ПР).....	36
РОЗДІЛ 4. ОТРИМАННЯ ГЕМІЦЕЛЮЛОЗ.....	Ошибка! Закладка не определена.
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	45
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	46

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- ЛРС — лікарська рослинна сировина;
РС — рослинна сировина;
ЛР — лікарська речовина;
ЛЗ — лікарський засіб;
ЛФ — лікарська форма;
ПР — пектинові речовини;
ПХ — паперова хроматографія;
ВРПС — водорозчинні полісахариди;
ДФУ — Державна Фармакопея України;
ЄФ — Європейська Фармакопея;
БАР — біологічно активні речовини;
СФ — спектрофотометрія;
СЧ — смородина червона
ШКТ — шлунково-кишковий тракт;
ВДШ — верхні дихальні шляхи
РСЗ — робочий стандартний зразок
ВООЗ — Всесвітня Організація Охорони здоров'я
ПАР — поверхнево активна речовина
ПСЧ — плоди смородини червоної
- RRE – екстракт смородини червоної
STZ – стрептозотоцин
TEM – трансмісійна електронна мікроскопія
DLS – динамічне розсіювання світла
FTIR – інфрачервоний спектр з перетворенням Фур'є
EDX – енергодисперсійний рентгенівський спектр

ВСТУП

В останні роки все більше уваги приділяється природним речовинам, які можуть мати корисний вплив на здоров'я людини. Однією з таких рослин є червона смородина (*Ribes rubrum*), яка має великий потенціал у фармацевтичній та харчовій промисловості. Сублімовані плоди цієї рослини є особливо цінним джерелом біологічно активних речовин.

Сублімовані плоди червоної смородини та їх полісахариди є предметом мого дослідження, яке виконується у рамках моєї кваліфікаційної випускної роботи. Червона смородина (*Ribes rubrum*) є важливою культурою плодів, відомою своїми цінними харчовими та лікувальними властивостями. Полісахариди, зокрема пектини, водорозчинні полісахариди та гомополісахариди, виступають ключовими компонентами сублімованих плодів червоної смородини, які можуть мати значну біологічну активність.

Полісахариди є одними з найважливіших біомолекул, які виявляються у різних організмах, включаючи рослини, мікроорганізми та тварин. Вони є групою вуглеводів, що складаються з повторюючих одиниць моносахаридів. Полісахариди відрізняються за своєю хімічною структурою, молекулярною масою та функціями, які вони виконують в живих системах [12].

Одним із найвідоміших полісахаридів є пектин. Пектини є складовою частиною клітинної стінки рослин, особливо багато їх міститься в плодах, ягодах, насінні та коренях. Вони відповідають за структурну цілісність клітинної стінки, регулюють проникність речовин, впливають на розвиток та стійкість рослин. Крім того, пектини мають гелюючі властивості, які використовуються у харчовій промисловості як загущувачі, стабілізатори та емульгатори.

Дослідження полісахаридів, зокрема пектинів, проводяться вже протягом багатьох десятиліть. Вчені досліджують їх хімічну структуру, властивості та функції, що дозволяє краще розуміти їх роль в природних системах та відкривати нові можливості для застосування [13].

Пектини знаходять широке застосування в харчовій промисловості, фармацевтиці, косметології та інших галузях. Вони використовуються для загущування його, стабілізації текстури та покращення якості продуктів харчування. Також пектини можуть використовуватись в якості лікарських препаратів, дієтичних добавок, антивікових засобів та інгредієнтів косметичних засобів.

Актуальність даної дипломної роботи обумовлена важливістю вивчення полісахаридів, які містяться в сублімованих плодах червоної смородини. Полісахариди виступають ключовими біомолекулами, що впливають на фізичні, хімічні та функціональні властивості плодів, а також можуть мати потенційні корисні властивості для здоров'я людини. Вивчення полісахаридів, які містяться в сублімованих плодах червоної смородини, може сприяти розширенню наших знань про їх склад і властивості, а також про біологічно активні сполуки, які вони містять.

Таким чином, дослідження полісахаридів, зокрема пектинів, водорозчинних полісахаридів та гомополісахаридів, є актуальними з погляду їх широкого спектру застосування в різних галузях. Ці полісахариди мають великий потенціал для розробки нових продуктів і технологій, що принесе користь як харчовій промисловості, так і фармацевтиці, косметології та іншим галузям [12].

Предметами дослідження є: полісахариди, зокрема пектини, водорозчинні полісахариди та гомополісахариди, які присутні в сублімованих плодах червоної смородини.

Мета роботи: визначення вмісту фракцій біологічно активних речовин, які містяться у сублімованих плодах смородини червоної.

Для досягнення мети потрібно було виконати наступні завдання:

- провести літературний аналіз джерел, щодо хімічного складу, застосування та переробки плодів смородини червоної;
- одержати ліпофільну фракцію та спиртовий екстракт плодів смородини червоної сублімованих;

- визначити кількісний вміст водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин у плодах червоної смородини сублімованих;
- визначити кількісний вміст гемоцелюлози А і Б у плодах червоної смородини сублімованих.

Об'єктом роботи є: сублімовані плоди червоної смородини, які виробляються і використовуються як природний продукт з високою біологічною активністю.

Новизна та значення дослідження. Вперше проведено фракціонування плодів смородини червоної сублімованих. Отримані результати дослідження можуть бути використані при розробці методів контролю якості на плоди смородини червоної сублімованих та розробки лікарських засобів та дієтичних добавок.

Особистий внесок здобувача. Дана робота є самостійним дослідженням автора, проведеного упродовж 2023 рр. Експериментальною роботою охоплено фітохімічні дослідження.

Апробація результатів дослідження. Результати дослідження викладені в випускній кваліфікаційній роботі доповідались та обговорювались на засіданнях кафедри фармакогнозії та ботаніки. Здобувач приймав участь у науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 25-річчю фармацевтичного факультету, на тему: «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», 19-20 грудня 2023 року.

Публікації. Опубліковані тези доповіді на науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 25-річчю фармацевтичного факультету.

Бендюк А.С. Держання ліпофільної фракції з плодів смородини червоної сублімованих / Бендюк А.С., Карпюк У.В. // Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 25-річчю фармацевт. ф-ту Нац. мед. ун-ту імені О. О. Богомольця, 19-20 груд. 2023 р. м. Київ / Нац. мед. ун-т

імені О. О. Богомольця, Фармацевт. ф-т; уклад. та відп. за вип.: Т. Д. Рева, І. А. Костюк. – Київ, 2023. – 175-176 с.

Структура і обсяг роботи. Випускна кваліфікаційна робота складається зі вступу, з 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи – 53 сторінки машинописного тексту. Робота ілюстрована 10 таблицями, 20 рисунками. Бібліографія нараховує 48 джерел.

РОЗДІЛ 1. ОПИС БОТАНІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК, ХІМІЧНИЙ СКЛАД РЕЧОВИН, ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ СМОРОДИНИ ЧЕРВОНОЇ

1.1. Короткий ботанічний опис рослини, поширення та заготівля.

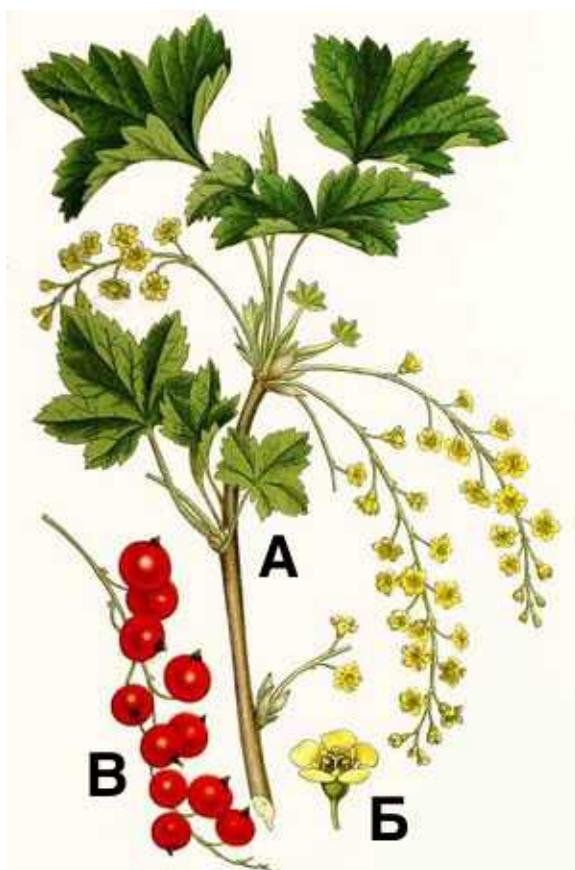


Рис. 1.1. Смородина червона
(*Ribes rubrum*)

А – квітучий пагін;

Б – квітка;

В – плоди.

[Електронний ресурс]:

<https://ua.depositphotos.com/vector-images/%D1%81%D0%BC%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B4%D0%B8%D0%BD%D0%B0.html>

Царство – Рослини (*Plantae*).

Родина – Агрисові (*Grossulariaceae*).

Рід – Смородина (*Ribes*).

Вид – Смородина червона (*Ribes rubrum* L.).

Смородина червона (*Ribes rubrum*) – прямостійна кущова рослина, від 1 до 1,5 м (рідко до 2 м) заввишки.

Стебла прямостоячі, майже голі, хрустко-опушені (на молодих приростах дещо ніжко-залозисті); шипи у вузлах відсутні; колючки на міжвузлях відсутні. Листя: черешкові 3-6 см, голі; лопать суборбікулятна, 5-лопатева, розщелина 1/3-1/2 до середньої жилки, 2,5-4,5 см, основа усічена до серцеподібної, поверхні не залозисті, рідко опушені на жилках абаксіально, голі адаксіально, частки широкояйцевидно-трикутні, краї дворізчасті-пилчасті, верхівка загострена. Суцвіття висхідні, 8-20-квіткові китиці, 2-6 см, вісь гола, не залозиста, квітки рівномірно

розташовані. Квітконіжки зчленовані, до 6 мм, голі, не залозисті; приквітки широкояйцеподібні, 0,5-1 мм, голі.

Квітки: гіпантій жовто-білий або зеленуватий, блюдцеподібні, 1 мм, голі; чашолистки майже перекривають один одного, розпростерті (закручені на кінчиках), зелені або зеленувато-коричневі, широко дельтастojайцевидні (різко звужені до тонкої основи), 2-2,5 мм; пелюстки широко розділені, прямостоячі, від кремового до рожевого кольору, клиновидно-пластчасті, не помітно



Рис 1.2. Квітки смородини червоної у період цвітіння

закручені або закручені, 0,3-1 мм; нектарник видатний, зелений, піднятий, 5-кутний, покриває верхівку зав'язі; тичинки майже такі ж завдовжки, як пелюстки; нитки лінійні, 0,2-0,3 мм, голі; пильовики білі, гантелеподібні, 0,2-0,3 мм (більше за довжину), верхівка з U-подібним заглибленням (мішечки пиляків чітко розділені сполучником шириною як мішечок); зав'язь гола; стилі сполучаються на 1/2 своєї довжини, 1+ мм, голі. Ягоди кислі, яскраво-червоні, кулясті, 6-10 мм, голі. Цвіте квітень-травень [17].

1.1.1. Поширення.

Родом з: Бельгії, Франції, Німеччини, Великої Британії, Нідерландів, Іспанії [36].

В Україну вона була введена (Рис.1.2) [36].

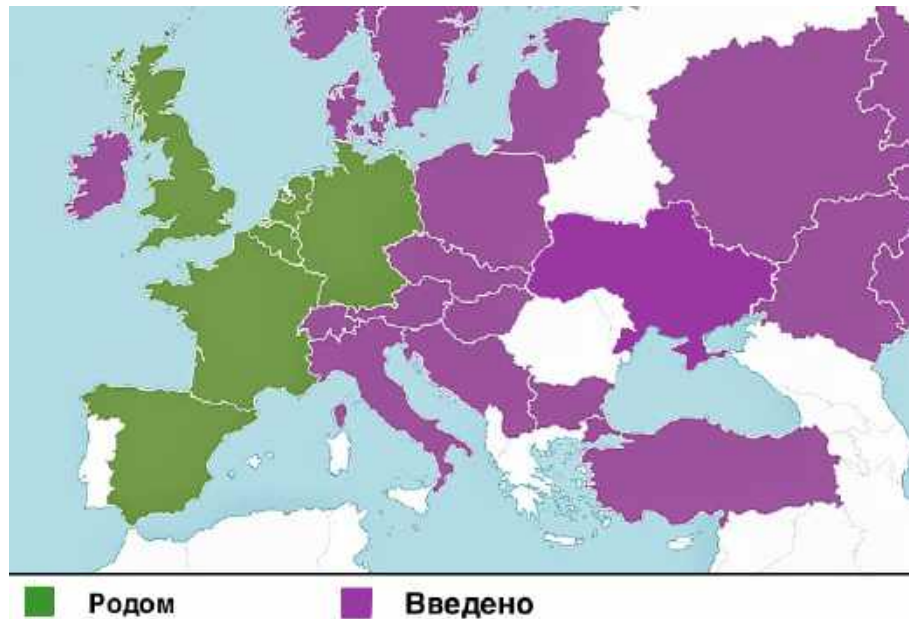


Рис.1.3. Поширення смородини червоної (*Ribes rubrum*).

Природна область поширення знаходиться у лісовій зоні по всій Євразії, де росте у дикому вигляді. Зустрічається на лісових узліссях, віддає перевагу берегам річок або струмків, утворює зарості.

1.1.2. Корисні властивості смородини червоної.

Поживні якості СЧ:

1. Червона смородина допомагає перемогти авітаміноз і є одним із найцінніших джерел аскорбінової кислоти, якої особливо багато у недозрілих ягодах.
2. При ГРВІ сприяє потовиділення та знімає гіпертермію.
3. Добре підвищує імунітет, поповнює енергетичні ресурси організму, стимулює захисні здібності.
4. Сприяє засвоєнню тваринного білка, рекомендована після важкої багатой їжі.
5. Сік позбавляє нападів нудоти, що також актуально при токсикозі (Рис. 1.1.3.).



Рис 1.4. Напій із плодів смородини червоної

[Електронний ресурс]:

<https://smachno.ua/ua/recepty/napitki/kvas-iz-krasnoj-smorodiny/>

6. Захищає серцево-судинну систему, виявляє хорошим профілактичним продуктом проти інсультів та інфарктів.

7. Знімає неприємні больові відчуття при колітах та ентероколітах.

8. Очищає шкіру та загоює місця уражені екземою та дерматитом..

10. Смородина зміцнює стінки судин та капілярів, підвищує їх еластичність, знижує прояви атеросклерозу.

11. Розчиняє холестеринові бляшки.

12. Має м'який жовчогінний ефект.

13. Справляється з анемією, зокрема вагітних.

14. Забирає млявість кишечника.

15. Не викликає алергії [9].

1.1.3. Заготівля.

Плоди смородини червоної заготовляють достиглими. Для зберігання свіжих плодів смородини слід використовувати холодильник і не залишати їх більше двох днів. Однак, для того щоб зберегти ягоду на довший термін, можна заморозити її або використати для приготування соку, морсу або желе.

Кілька кроків, для заготівлі плодів смородини червоної:

1) Зібрати смородину в зрілому стані з кущів. Смородина повинна бути чистою і сухою.

2) Промити ягоди під холодною водою та обсушити їх на рушнику або паперовому рушнику.

1.1.4. Зберігання.

Післязбірне зберігання плодів червоної смородини не тільки спричиняє втрату тургору внаслідок втрати вологи, але й змінює хімічний склад плодів. Відразу після збору врожаю плоди червоної смородини можна зберігати в холодильнику або піддати процесу заморожування, щоб пригнічувати несприятливі біохімічні процеси, які відбуваються в плодах після збору.

Озонування може бути використане з метою зменшення втрат якості у холодних фруктів. Використання процесу озонування має позитивний вплив на зменшення втрат води під час зберігання плодів, підвищує активність антиоксидантів та призводить до зменшення виділення етилену з плодів, що були оброблені. Озон є високоокислюваною хімічною речовиною, яка знезаражує оброблений рослинний матеріал, подовжуючи тим самим термін його технологічного зберігання. Озон може бути використаний у двох формах: водній та газоподібній. Проте, дослідження ефективності процесу озонування фруктів показали, що газоподібна форма є більш ефективною.

Охолодження плодів червоної смородини впливає не тільки на вміст води, але також пов'язане зі змінами механічних властивостей, які важливі для управління та розробки оптимальної технології переробки даної сировини [26].

Також, хорошим методом зберігання плодів смородини червоної є **сублімація**, вона може бути використана для сушіння і консервування ягід [45], [9].

Середня кількість аскорбінової кислоти в ягодах смородини червоної коливалася від 50,5-71,6 мг/100 г ФВ, а концентрація інвертних цукрів коливалася від 6,0%-9,0%. Червону смородину переробляли до соку, і вміст фенолів та антоціанів змінювався в результаті обробки. Ягоди та соки довго зберігалися при -18 °С і спостерігалися зміни фітохімічних речовин. У ягодах при зберіганні вміст аскорбінової кислоти знижувався до 49 %. також було помічено загальне зниження загального вмісту фенолів. У соках загальний вміст фенолів збільшився після одного року зберігання. І в ягодах, і в соках

загальний вміст антоціанів підвищувався під час зберігання до 85% і 50% відповідно [14].

Для зберігання плодів досліджуваної рослини можна використати також процес **вакуумного сушіння** червоної смородини за методологією поверхні відгуку (RSM) .

Для оптимізації процесу сушіння висушених зразків, дослідники Шумич З., Вакула А. та інші використовували експериментальну конструкцію Vox-Behnken з методологією поверхні відгуку, що дозволяла оптимізувати фізичні параметри (вміст вологи, активність води, загальна зміна кольору, твердість і здатність до регідратації) і хімічні показники (загальна кількість фенолів, загальна кількість флавоноїдів, мономерних антоціанів та аскорбінової кислоти), а також антиоксидантну активність висушених зразків. У якості незалежних змінних вивчалися температура (в межах 48-78 °С), тиск (від 30 до 330 мбар) та тривалість сушіння (від 8 до 16 годин). Результати експерименту були використані для створення поліноміальної моделі другого порядку. Застосування регресійного та дисперсійного аналізу дозволило визначити, наскільки добре модель описує експериментальні дані та знайти оптимальні умови для сушіння. Оптимальними умовами одночасної оптимізації відповідей виявились температура 70,2 °С, тиск 39 мбар і час висихання 8 годин. У висновку метод вакуумного сушіння дає зразки з хорошими фізико-хімічними властивостями, подібними до ліофілізованого зразка та кращими, ніж традиційно висушений зразок [40].

1.2. Промислове застосування та у медицині плодів смородини червоної.

Ягоди червоної смородини їстівні. Вони містять цукри (4-10%), аскорбінову кислоту, є хорошим джерелом вітамінів С і Р. Завдяки підвищеному вмісту кислот смородиновий сік ягід добре вгамовує спрагу,

піднімає апетит, пригнічує блювоту, активізує діяльність кишечника, тому дуже вдалий для відновлення сил після тривалої хвороби, особливо у літніх людей. Морс з ягід смородини червоної – хороший прохолодний напій [12].

1.2.1. Застосування у медицині.

Призначається при запорах; має також потогінну дію, тому корисний при застудах; має жовчогінну, протизапальну і кровоспинну дії. Завдяки високій антиоксидантній активності плодів червоної смородини їх використовують як сировину для профілактики онкологічних захворювань, захворювань, пов'язаних з порушенням роботи серця (гіпертонія, атеросклероз, ішемічна хвороба серця), захворювань нирок [13].



Рис 1.5. Фармакологічні властивості плодів смородини червоної

1.2.2. Використання при виразці шлунка.

Олія смородини червоної має гастропротекторну та антисекреторну та протизапальну дію. Вчені Ельсадек М., Альмоаджел А. та інші провели дослідження на щурах-альбіносах із індометацин-індукованою виразкою шлунку і вияснили, що введення перорально олії смородини червоної у дозі 15 мл/кг, а потім 10 мл/кг дало найкращі результати проти виразки. Дані показали, що основними компонентами олії *Ribes rubrum* є β -пінен, γ -лінолен та ліналоол (25,9%, 23,10% та 10,5% відповідно) щодо їх антиоксидантної активності. Підсумовуючи, результати узгоджуються з концентрацією, згідно з якою мала *Ribes rubrum* гастропротекторну та антисекреторну дію проти виразки шлунка, що можна пояснити антиоксидантними властивостями олії, які зменшують пошкодження шлунка щурів [16].

1.2.3. Використання при діабеті.

Екстракти, отримані з *Ribes rubrum* (RRE) проявляють проти діабетичну, протизапальну та антитромбоцитарну дії. Гюльмез Г. оцінював властивості екстракту методами *in vitro* та *in vivo*. Він дослідив, що введення екстракту RRE хворим на діабет щурам незначно знижувало рівень глюкози в крові. Експериментальна модель діабету у щурів була індукована стрептозотоцином (STZ). Результати показали, що спостерігалось підвищення рівня TNF- α в плазмі та тканині підшлункової залози в групі діабетиків. Екстракт *Ribes rubrum* регулював і нормалізував їх рівень у плазмі та тканинах підшлункової залози, значно знижував рівень P-селектину тромбоцитів і запобігав індукованій STZ втраті мітохондріальної мембрани у тромбоцитах.

Тому, результати досліджень показують, що екстракт RRE може бути корисним для запобігання діабетичним ускладненням [19].

1.2.4. Ефективність водних екстрактів червоної смородини у контролі росту деяких патогенних грибів та бактерій.

Вчені Різвана Х. та інші у своєму дослідженні здійснили синтез наночастинок срібла (AgNP), опосередкований сонячним світлом, який був успішно здійснений протягом 9 хвилин після додавання розчину нітрату срібла до водного екстракту червоної смородини.

Синтезовані AgNPs були охарактеризовані за допомогою UV-Vis, трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ), динамічного розсіювання світла (DLS), інфрачервоного спектра з перетворенням Фур'є (FTIR) та енергодисперсійного рентгенівського спектру (EDX). Спектр УФ-видимого (UV-Vis) показав пік поглинання при 435 нм, що відповідало смузі поверхневого плазмону. Наночастинки срібла червоної смородини були дуже потужними в інгібуванні росту та проліферації деяких грибкових і бактеріальних досліджуваних ізолятів, особливо що відповідало поверхневій плазмонній смузі, для прикладу *Alternaria alternata*, *Colletotrichum musae* та *Trichoderma harzianum*. Завдяки потужній протигрибковій та антибактеріальній активності, продемонстрованій у цьому дослідженні, наночастинки червоної смородини можна досліджувати як потенційну заміну синтетичним фунгіцидам і антибіотикам [35].

1.3. Хімічний склад плодів смородини червоної.

Плоди червоної смородини містять цукри (в основному глюкозу і фруктозу), органічні кислоти (в тому числі яблучну і лимонну), поліфенольні сполуки, в тому числі флавоноїди або антоціани, мікро- і макроелементи (Ca, Zn, Mg, P, Fe, Cu, Mn), вітаміни та клітковину, вміст яких залежить як від сорту, так і від абіотичних умов протягом вегетаційного періоду.

Використовуючи оптимізований метод HPLC, було проведено оцінку вмісту **фенолів** у екстракті, отриманому з ягід червоної смородини, а також його ідентифікацію та кількісну оцінку. У процесі аналізу було встановлено

присутність декількох фенольних сполук, зокрема галової кислоти, (+)-катехіну, сиригової кислоти, коричної кислоти, хлорогенової кислоти, ферулової кислоти, рутина і кверцетину.

Таблиця 1

Вміст фенольних сполук у плодах смородини червоної

Стандарт	Область вибірки (mAU*s)	Стандартна площа (mAU*s)	Маса зразка (мг)	Стандартна маса (мг)	Стандартна концентрація %	мг фенольних сполук / 100 г сухої маси	
Кверцетин	0	371.7557	521.47	5.19	95	0.00	
Рутин	42.01485	225.8515		6.34	94	8.50	
Галова кислота	73.69572	467.3984		5.79	98.5	6.90	
Сиригова кислота	312.96799	392.7161		5.45	95	31.65	
Кавова кислота	0	773.6238		5.21	98	0.00	
Корична кислота	8.38993	1117.151		5.68	99	0.32	
Ферулова кислота	17.46582	673.0148		5.05	99	1.00	
(+)-Катехін	109.55875	100.7379		5.19	98	42.43	
Ресвератрол	0	1058.129		5.04	99	0.00	
Хлорогенова кислота	34.52472	356.8267		5.15	95	3.63	
Всього						94.43	

Наприклад, галова кислота проявляє антигіперглікемічну, протипухлинну, антимікробну, кардіозахисну і нейропротекторну активність [34], [41], [42].

(+)-Катехін впливає на кардіоваскулярні захворювання, цукровий діабет та захищає шкіру від ультрафіолетового В-випромінювання [15], [24], [30].

Сиринкова кислота має антибактеріальні, антистеатотичні, протизапальні і нейропротекторні властивості, а корична кислота відома своїми протипухлинними властивостями та здатністю покращувати функцію судин [20], [29], [44].

Хлорогенова кислота проявляє антигіпертензивну активність, сприяє поліпшенню функції судин і захищає ендотеліальні клітини від окислювальних пошкоджень, а також володіє нейропротекторними ефектами [23], [43].

Ферулова кислота запобігає хворобі Альцгейнера, виявляє протипухлинну активність та володіє властивостями, подібними до протимікробних і протизапальних препаратів [25], [32].

Кверцетин проявляє захисний ефект щодо дегенерації сітківки, має протипухлинну, антигіперглікемічну та кардіозахисну дію [27], [47].

За своєю чергою, рутин здатний знижувати концентрацію глюкози в плазмі, а також має протипухлинні і нейропротекторні ефекти [31]. Всі вищезгадані фенольні сполуки проявляють вражаючий позитивний вплив на здоров'я людини.

1.3.1. Культивування калюсу.

Хірано М. виявив, що при обробці холодом відбувається збільшення співвідношення поліненасичених жирних кислот (PUFA) до загальної кількості жирних кислот (TFA), а також збільшення вмісту білка з низькою молекулярною вагою, що вказує на холодостійкість калюса *R. rubrum*.

Калюс *Ribes rubrum* був культивованим протягом 28 днів при температурі 15°C, що призвело до значного підвищення вмісту білків і ліпідів у порівнянні з калюсом, культивованим при 25°C. У калюсі, культивованому при 25°C виявлено зниження вмісту моногалактозилдіацилгліцерину (MGDG) та збільшення вмісту дигалактозилдіацилгліцерину (DGDG), сульфохіновозилдіацилгліцерину (SQDG) і фосфатидилдіацилгліцерину (PG) порівняно з калюсом, культивованим при 15°C в протягом 7 днів, але в 28-денній культурі вміст цих ліпідів у калюсі при 15°C був таким самим, як у калюсі, культивованому при 25°C. У калюсі, культивованому при 15°C, виявлено значне збільшення вмісту білків з молекулярною масою менше 30 кДа у 28-денній культурі порівняно з калюсом, культивованим при 25°C [22].

1.3.2. Склад олії з насіння *Ribes rubrum*.

Олії з достатнім вмістом жирних кислот, які можуть метаболізуватись у попередники протизапальних ейкозаноїдів, мають потенційний вплив на здоров'я. Анссі Вуорінен в своїх дослідженнях виявив, що олія насіння *Ribes rubrum* багата α -ліноленовою, γ -ліноленовою та стеаридоновою кислотами, що належать до цієї групи жирних кислот.

До того ж, Гоффман Ф. Д. та Галлетті С. дослідили наявність в олії насіння *R. rubrum* не тільки гамма-ліноленову кислоту, а й наявність токоферолу. Загальний вміст його в середнього виявили 1442 мг кг (-1), також концентрацією дельта-токоферолу становить приблизно 20,2 %. Гамма-ліноленової кислоти в олії *R. rubrum* показали 6,2%. Дане дослідження показало, що насіння виду *Ribes rubrum* можна використовувати як джерело гамма-ліноленової кислоти та природного вітаміну Е [18], [46].

1.3.3. Азотовмісні фітохімічні речовини, що сушать рот і в'яжуть, виділені із червоної смородини (*Ribes rubrum*).

Нещодавно Шварцем Б. було виявлено, що червона смородина (*Ribes rubrum*) містить чотири фітохімічні речовини з азотом у своєму складі, які є ключовими в'яжучими та спричиненими сухість у роті. Крім серії флавоно-3-ол глікозидів і (E)/(Z)-аконітової кислоти, застосування хроматографічного розділення та аналізу розведення смаку дозволило виділити і визначити структуру двох індолів - 3-карбоксиметил-індол-1-N-бета-D-глюкопіранозиду (1) та 3-метилкарбоксиметил-індол-1-N-бета-D-глюкопіранозиду (2), а також двох нітрилів - 2-(4-гідроксибензоїлоксиметил)-4-бета-D-глюкопіранозилокси-2(E)-бутенітрил (3) і 2-(4-гідрокси-3-метоксибензоїлоксиметил)-4-бета-D-глюкопіранозилокси-2(E)-бутенітрил (4), використовуючи методи 1D/2D ЯМР, РХ-МС/МС та спектроскопії УФ-вид [37], [38].

1.3.4. Клонування та експресія *dfc* (дигідрофлаванол-4-редуктази) у *Ribes rubrum* під час дозрівання плоду.

Лю С. та інші досліджували вплив *dfc*, ключового гена для синтезу антоціанів у смородині червоній. Три повнорозмірні послідовності кДНК гена *dfc* були клоновані методом RACE (швидка ампліфікація кінців кДНК) і названі *Rndfc*, *Rrdfc* і *Radfc*. Філогенетичний аналіз показує, що *Rndfc*, *Rrdfc* і *Radfc* мали високу гомологію в еволюції. Визначення вмісту антоціану в різні фази розвитку плодів показує, що вміст антоціану в червоній смородині був вищим і поступово зростав із дозріванням плодів. Кількісний аналіз RT-PCR показує, що рівень експресії *dfc* у червоній смородині поступово зростав до періоду 75% кольору плодів, потім *Rrdfc* швидко знижувався [28].

1.3.5. Аналіз генів антоціанінового шляху в роді *Ribes* виявив ген MYB, який має високу ефективність в індукції антоціанінів.

Старкевич П. виявив ген MYB у роді *Ribes*, який має значну здатність індукувати антоціанін, під час виділення та аналізу генів антоціанінового шляху.

До цього часу немає даних про гени та регуляцію флавоноїдного шляху в садових культурах роду *Ribes*, хоча їхні плоди оцінюються за багатість антоціанів. У цьому дослідженні були виділені кодуючі послідовності ферментів шляху флавоноїдів та їх передбачувані регулятори MYB10, bHLH3 і WD40. У фруктів чотирьох видів роду *Ribes*, що мають різні рівні антоціанів, було проаналізовано експресію цих генів. Результати показали, що рівні транскрипції ферментів та регуляторного гена RrMYB10 корелюють з колірним забарвленням та кількістю антоціанів у різних сортах *Ribes*.

У результаті функціональних тестів було виявлено, що RrMyb10 демонструє високу здатність стимулювати синтез антоціану в гетерологічній системі, навіть без одночасної експресії будь-якого гетерологічного bHLH. З іншого боку, RrbHLH3 збільшує MYB-індукований синтез антоціану [39].

1.4. Метод висушування – сублімація. Використання методу для плодів *Ribes rubrum*.

Сублімація (ліофілізація) – це процес видалення води або розчинника з речовини шляхом її переходу з твердого стану в газоподібний стан без переходу в рідкий стан. Майже єдиний метод збереження усіх корисних поживних властивостей рослинного матеріалу полягає в застосуванні процесу ліофілізації. Для даного методу використовують сублімаційні сушарки – це пристрій призначений для консервування продуктів методом сублімації зневоднення у вакуумі [1].

Для того щоб провести сублімаційне сушіння важливо в точності дотримуватися двох чинників:

1. Основний відсоток вологи повинен в продукті містяться в крижаному вигляді, а загальний її обсяг не повинен бути нижче 70% від маси продукту.

2. Необхідно дотримання правил сублімації льоду з різницею тисків між паровими виділеннями над поверхнею продукту і парами в камері.

Основним критерієм сублімаційного сушіння є рівень тиску. Підтримка точних показників забезпечить перехід льоду в пароподібний стан минуючи рідку фазу. Конденсація парових виділень здійснюється за допомогою спеціальних випарних приладів [2].

Під час сушіння продукти набирають певну температуру і віддають тепло під час випарів льоду. Щоб компенсувати теплові втрати і підтримати певний температурний режим, потрібне постійне теплове підведення. Межа створення пару поступово зміщується від поверхневих шарів продукту в його глиб, ускладнюючи ефективну підводку тепла. Підсохлі шари оброблюваної продукції через низьку теплову провідність ускладнюють підведення тепла до ділянок сушіння та знижують якість видалення вологи [13].

Етапи сублімації на практиці:

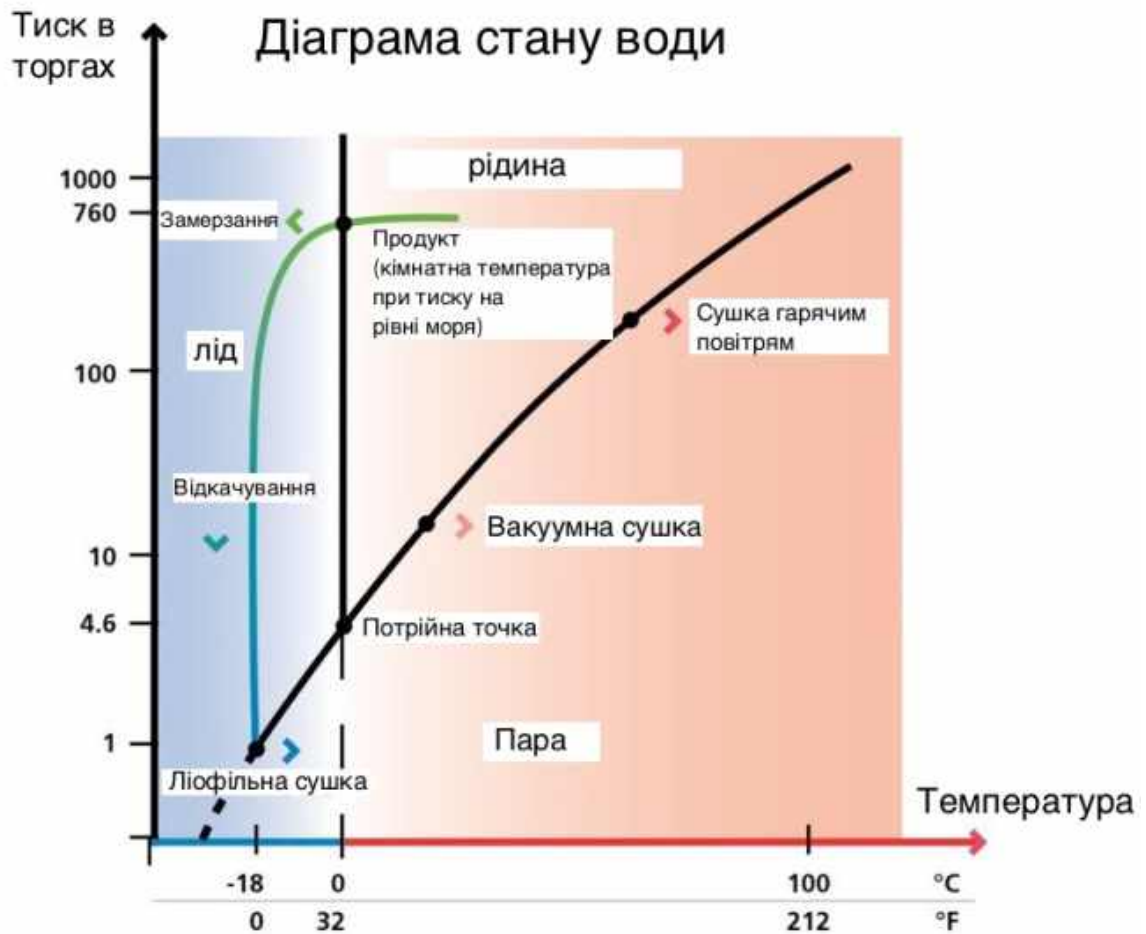


Рис. 1.6. Метод сублімації (ліофілізації)

[Електронний ресурс]:

<https://www.sublimat.com.ua/uk/sublimatsionnaja-sushilka%20-siriy>

- Спочатку підготовлений продукт швидко заморожують - температура заморожування досягає від -100°C до -130°C .
- Після його поміщають в спеціальну вакуумну камеру: повітря викачується з камери
- Далі продукти піддають тепловій обробці (не більше ніж 40°C), а всі конденсати відразу ж відкачують (Рис. 1.2.).

У підсумку в готовому продукті вологи залишається всього 2-4%. Після такої обробки, продукти фасують в герметичні упаковки і після з ними можна вже працювати. Продукти, які були піддані сублімації, мають довший

термін зберігання і можуть бути використані в різних продуктах, таких як сухофрукти, мусли, або як добавка до чаю та інших напоїв.

Хоча сублімація є більш складним та дорогим процесом, ніж традиційні методи сушіння, вона може бути ефективним методом для зберігання якості та корисних властивостей червоної смородини [3].

1.4.1. Метод сублімації плодів смородини червоної (*Ribes rubrum*).

Сублімаційне сушіння або ліофілізація за багато років успішно використовується у виробництві фармацевтичних препаратів.

Високу ефективність сублімаційних порошоків рослин у медичній та фармацевтичній практиці підтверджують дослідження провідних науковців з Франції, Німеччини, Перу, Болгарії та Америки. Крім того, проводяться дослідження різних технологічних та фізичних методів для оптимізації процесів ліофілізації [6].

Процес сублімації червоної смородини полягає в тому, що свіжі ягоди спочатку заморожуються. Після цього ягоди піддаються вакуумній сублімації, під час якої з них видаляється вода та інші речовини, що можуть зменшувати термін зберігання.

У результаті процесу сублімації червона смородина зберігає свою форму та структуру, а також зберігає більшу кількість своїх корисних речовин, таких як вітаміни та антиоксиданти, ніж у випадку з традиційними методами сушіння.

Сублімація червоної смородини має кілька переваг порівняно з іншими методами сушіння. Перш за все, вона дозволяє зберегти більшу кількість корисних речовин у порівнянні з традиційними методами сушіння, оскільки вона не порушує структуру та форму ягід.

Крім того, процес сублімації може зменшити вплив високих температур на ягоди, що може призвести до втрати корисних речовин і погіршення якості продукту.

Під час сублімації плодів смородини червоної, зазвичай зберігаються водорозчинні вітаміни, такі як вітамін С та група В, а також різні фітонутрієнти, такі як антоціани, фенольні кислоти, каротиноїди та інші біологічно активні сполуки. Однак, частково втрачаються леткі сполуки, такі як ефірні олії та терпени, які можуть вплинути на аромат і смак сублімованої продукції.

Нарешті, сублімація червоної смородини дозволяє зберегти її природний колір та аромат, який може бути втрачений при традиційних методах сушіння [13].

1.5. Метод фракціонування полісахаридів.

Фракціонування полісахаридів - це процес розділення комплексних сумішей полісахаридів на окремі підгрупи або фракції за їхніми хімічними, фізичними або структурними характеристиками. Цей процес дозволяє дослідникам вивчати склад та властивості окремих полісахаридних компонентів [5].

Фракціонування полісахаридів може бути проведене за допомогою різних методів і технік. Найпоширенішими методами фракціонування полісахаридів є:

1. Гель-фільтрація або розмірно-виключна хроматографія: Використовується гелева матриця з певними порами, яка розділяє полісахариди залежно від їхнього розміру. Більші полісахариди не проникають у пори гелю і проходять через колонку швидше, тоді як менші полісахариди проникають у пори і рухаються повільніше.

2. Іонообмінна хроматографія: Заснована на взаємодії між зарядженими полісахаридами і іонообмінними колонками з певними хімічними властивостями. Розподілення відбувається на основі різниці в заряді та афінності полісахаридів до іонообмінної матриці.

3. Газова хроматографія: Використовується для розділення полісахаридів на основі їхньої волатильності та розчинності у розчинниках. Полісахариди переходять у газову фазу та розділяються на стаціонарній фазі, що може бути покриттям на стінках капілярної колонки або на пористих матеріалах.

Хроматографія на папері або тонкому шарі: Заснована на розподілі полісахаридів між рухомою фазою (папір або тонкий шар) та стаціонарною фазою (наприклад, розчинник). Розділення відбувається на основі різниці у взаємодії полісахаридів з фазами.

Ці методи дозволяють отримати окремі фракції полісахаридів, що мають різні фізико-хімічні характеристики, такі як розмір, молекулярна маса, розчинність, структура та функціональність. Це дозволяє дослідникам глибше вивчати окремі компоненти полісахаридів та їхні властивості [8].

Заключення

Було проведено аналіз наукової літератури та структурування інформації про рослинну сировину, яка містить пектини. Дослідження свідчать про біологічну активність пектинів. Фармакологічні властивості показують їх високу активність в різних напрямках. Ці речовини мають антиоксидантні властивості, проявляють пребіотичний ефект та знижують рівень холестерину.

Для розширення бази сировини, що може служити джерелом пектинів, важливим є дослідження плодів червоної смородини сублімованих.

РОЗДІЛ 2. ОТРИМАННЯ ЛПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТА СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТУ

Для дослідження нами були обрані висушені плоди смородини червоної сублімовані. Плоди заготовляли у 2023 році. Країна походження – Україна, виробник ТзОВ «Галфрост» (Львівська обл.). Плоди подрібнювали на порошок розміром частинок $d = 0,5$ см. Насіння залишалось цільним. Сировину зберігали у пакетах із зіппером, у сухих, чистих, добре вентильованих приміщеннях, при температурі не більше $+18$ °C та відносній вологості повітря не більше 70%, в герметично закритій упаковці, без потрапляння прямого сонячного світла.

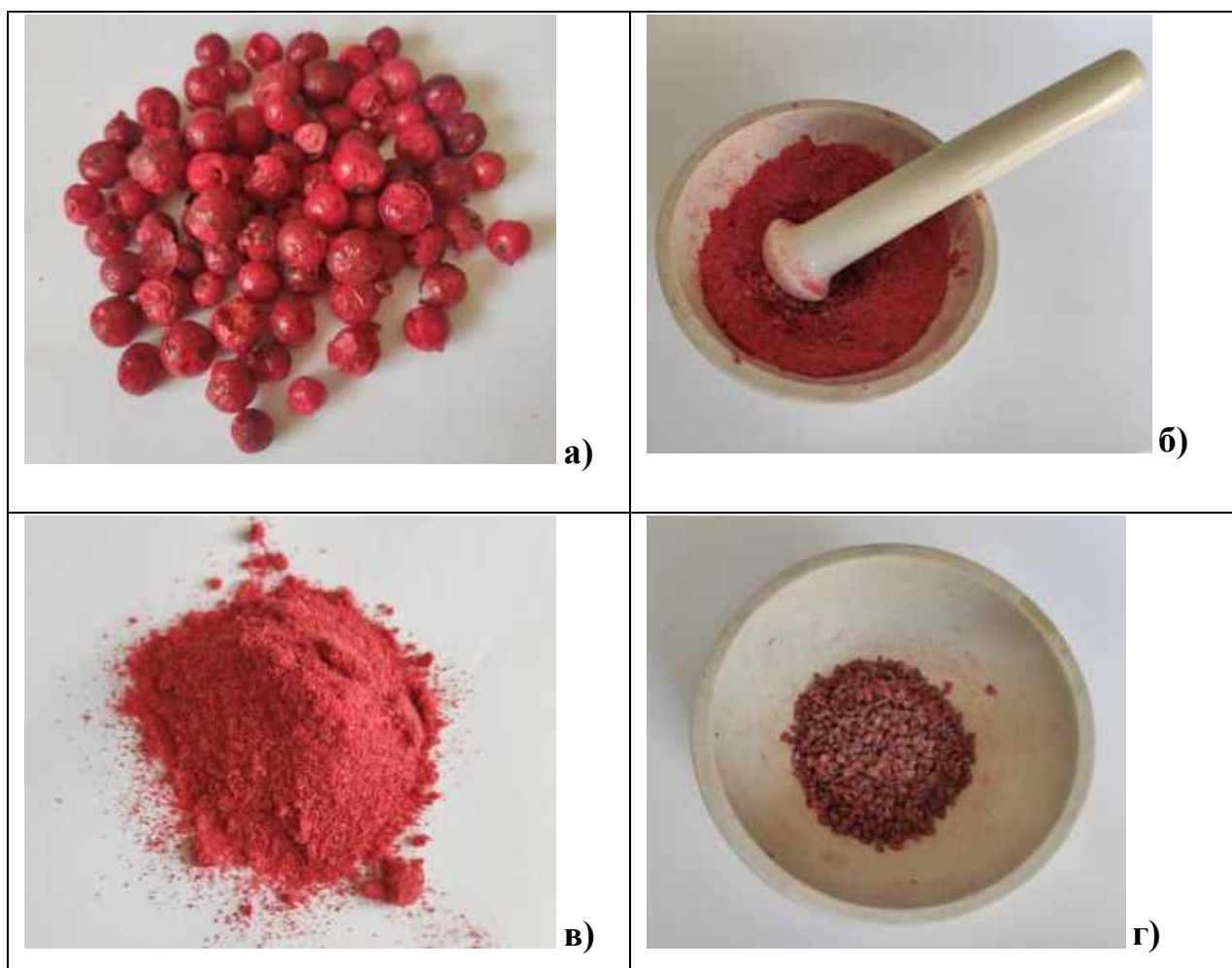


Рис.2.1. Плоди смородини червонової сублімованих: а) сублімовані цільні плоди; б) процес подрібнення плодів у ступці; в) порошок з цільних плодів; г) цільне насіння.

2.1. Отримання ліпофільних сполук.

Методика.

Для отримання ліпофільного екстракту використовують метод вичерпної екстракції, дослід проводять у апараті Сокслета.

Спочатку подрібнену сировину зважують на ручних вагах, кладуть на фільтрувальний папір і поміщають в екстрактор. Далі додають хлороформ (розчинник) через холодильник, поки рідина не переллється в приймач через сифон. Після цього додають ще хлороформ у екстрактор, заповнюючи близько 1/3 його об'єму.



Рис.2.2. Апарат Сокслета:

- 1- отвір водяного холодильника;
- екстрактор;
- 2- холодильник;
- 3- екстрактор;
- 4- сифон;
- 5- злив сифона
- 6- патрон із сировиною;
- 7- колба-приймач;
- 8- нагрівач;
- 9- труби для холодної води;
- 10 - металевий штатив;
- 11- трубка для парів розчинника.

На водяній бані підігривають приймач з хлороформом. Пари хлороформа, що утворюються, піднімаються по трубці до холодильника, де вони конденсуються і краплять на сировину в екстракторі, де відбувається виділення ліпофільних речовин. Коли рідина в екстракторі наповниться до рівня сифона, вона стікає в приймач.

Процес отримання ліпофільної фракції триває до того моменту, коли ліпофільні речовини повністю вилучаються, і екстрагент стає безбарвним.

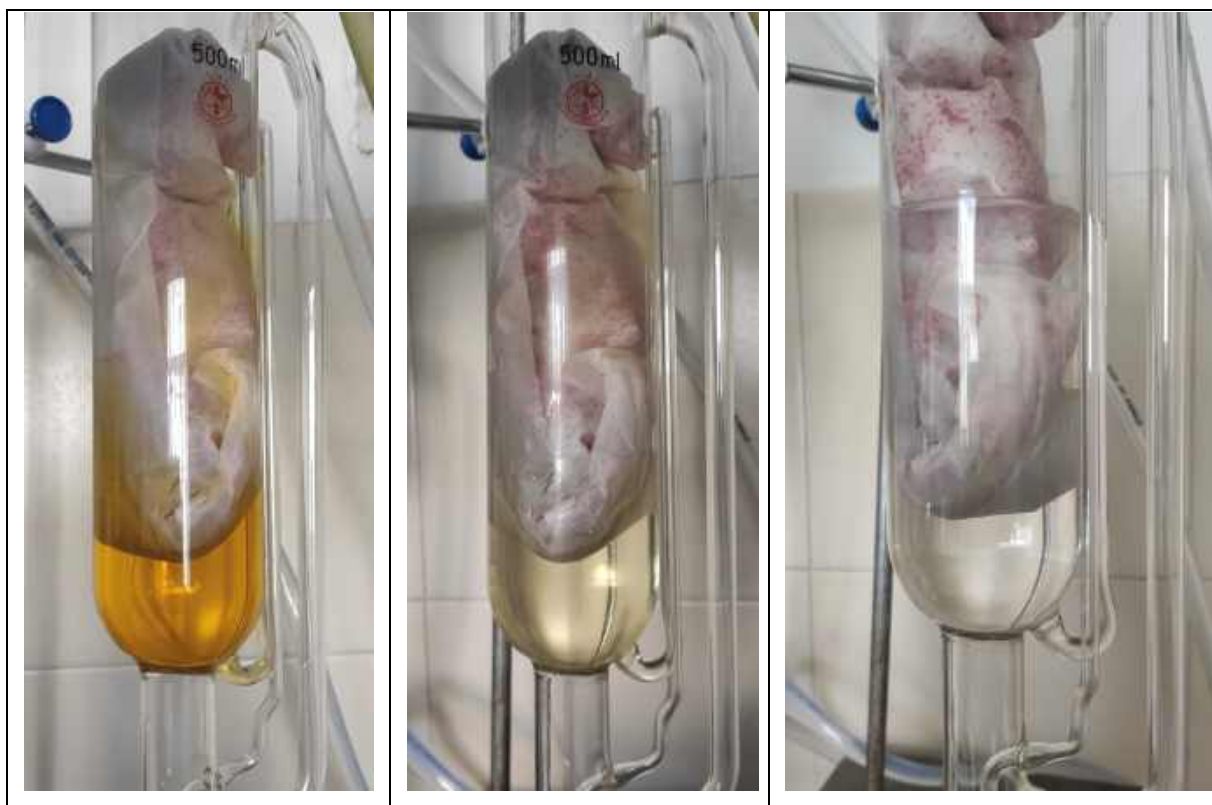


Рис. 2.3. Процес вилучення ліпофільних речовин методом вичерпної екстракції

Після завершення вичерпної екстракції, коли екстрагент більше не має колірного відтінку, апарат Сосклета розбирають, а розчинник випаровують. Колбу-приймач висушують у сушильній шафі при температурі наближеної до 100°. Сировину також піддають процесу сушіння.

За допомогою аналітичних ваг визначають масу ліпофільних речовин (X) та обчислюють їх вихід у відсотках:



Рис 2.4. Упарювання розчинника у роторному випаровувачі

$$X = \frac{(m_1 - m_0)100}{m};$$

де:

X – кількість ліпофільних речовин, (%);

m_1 – маса колби з ліпофільним екстрактом, (г);

m_0 – маса пустої колби, (г);

m – маса наважки рослинної сировини, (г).



Результат.

Ліпофільна фракція плодів смородини червоної сублімованих являє собою густу масу темно жовто-коричневого кольору без запаху. Розчинність ліпофільної фракції плодів *Ribes rubrum* сублімованих не розчинна в воді, повністю розчинна в хлороформі та у гексані.

Вихід ліпофільної фракції плодів смородини червоної сублімованих - $1,09 \pm 0,64\%$.

Рис 2.5.
Ліпофільна фракція плодів смородини червоної сублімованих

2.2. Отримання спиртового екстракту

Методика.

Після отримання ліпофільних речовин, добре висушений шрот від об'єкта дослідження зважують та поміщають у круглодонну колбу об'ємом 2000 мл. Далі додають етиловий спирт з концентрацією 82% та підключають колбу до зворотного холодильника, нагріваючи на водяній бані. Екстракцію потрібно провести двічі, кожен раз тривалістю 2 години.



Рис 2.6. Упарювання у роторному випаровувачі

Після завершення процесу екстрагування, екстракт проціджують через фільтрувальний папір, відокремлюючи його від сировини. Сировину стискають, щоб видалити залишковий екстракт, після чого проводять процес висушування.

Упарювання проводиться роторним випаровувачем (Heidolph Hei-VAP Core).

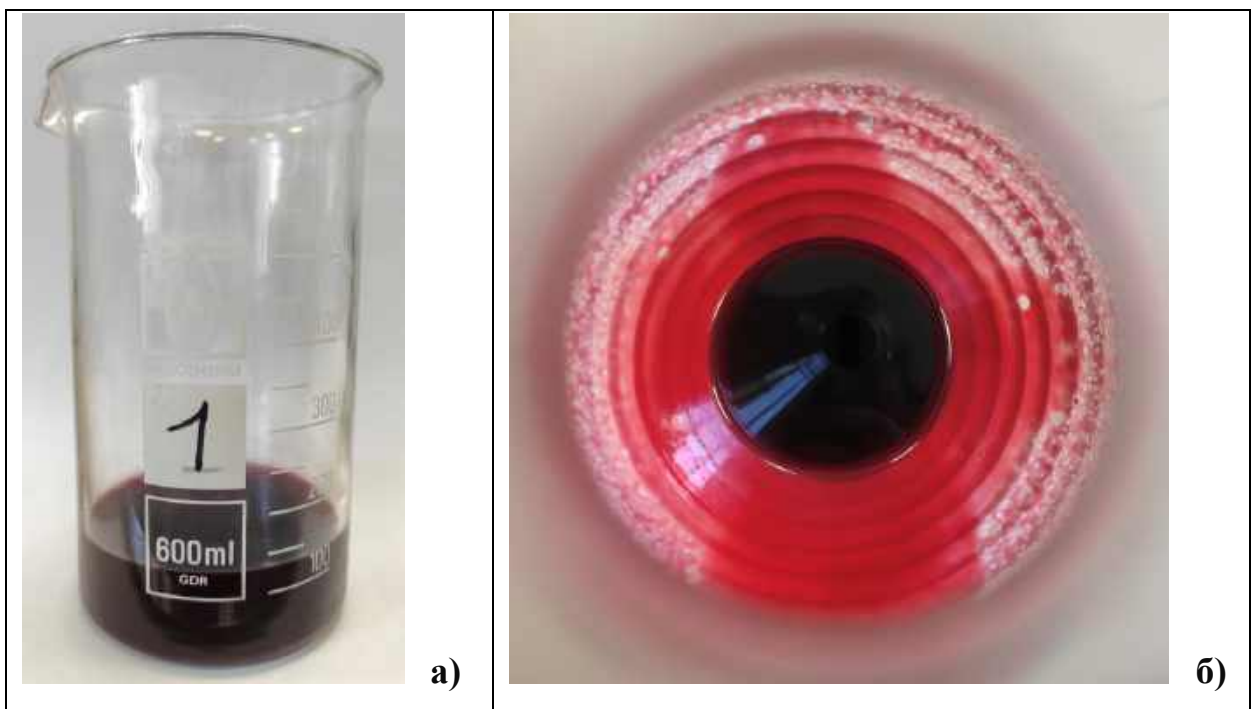


Рис 2.7. Спиртовий екстракт плодів смородини червоної сублімованих: а) до випаровування; б) після випаровування

Вихід спиртового екстракту плодів смородини червоної сублімованих – 59,8±1,49%.

Таблиця 2.1

Вихід ліпофільної фракції та спиртового екстракту плодів смородини червоної сублімованих

Отримана фракція	Вихід, %
ЛФ	16,2±0,53
СЕ	59,8±1,49

Таблиця 2.2

Вихід ліпофільної фракції плодів смородини червоної сублімованих

m	n	X _i	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε, %
ЛФ									
5	4	15,95	16,20 51	0,0759333 00	0,123234 1	0,95	2,78	16,2±0,53 %	16,205 1
		16,42							
		16,17							
		17,09							
		15,46							

Таблиця 2.3

Вихід спиртового екстракту плодів смородини червоної сублімованих

m	n	X _i	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε, %
СЕ									
5	4	60,47	59,81 02	0,0759333 00	0,123234 1	0,95	2,78	59,8±1,49 %	59,810 2
		58,02							
		59,09							
		58,92							
		60,81							

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2

Для отримання ліпофільного екстракту з плодів сублімованих червоної смородини використовується метод вичерпної екстракції, проведений у апараті Сокслета. В процесі екстракції застосовується хлороформ як розчинник. Отримана ліпофільна фракція має густу масу темно жовто-коричневого кольору без запаху.

Ліпофільна фракція плодів сублімованої червоної смородини є нерозчинною у воді, а повністю розчинною в хлороформі та гексані. Вихід ліпофільної фракції з плодів сублімованої червоної смородини становить $16,2 \pm 0,53\%$.

Ці результати отримані в результаті проведення екстракції методом Сокслета вказують на успішне виділення ліпофільних речовин з плодів сублімованої червоної смородини та можуть бути використані для подальших досліджень щодо характеристик та потенційних корисних властивостей цих речовин.

Після отримання ліпофільних речовин з плодів сублімованої червоної смородини, проведено отримання спиртового екстракту за допомогою етилового спирту з концентрацією 82%. Вихід спиртового екстракту з плодів сублімованої червоної смородини склав $59,8 \pm 1,49\%$.

Отримані результати свідчать про ефективність методики отримання спиртового екстракту з плодів сублімованої червоної смородини. Отриманий екстракт може бути використаний для подальших досліджень щодо його характеристик, потенційних застосувань та біологічної активності. Високий вихід спиртового екстракту свідчить про ефективне використання обраної методики отримання екстракту з плодів сублімованої червоної смородини.

РОЗДІЛ 3. ОТРИМАННЯ ВОДРОЗЧИННИХ ПОЛІСАХАРИДІВ ТА ПЕКТИНОВИХ РЕЧОВИН

3.1. Одержання водорозчинних полісахаридів (ВРПС).

Методика.

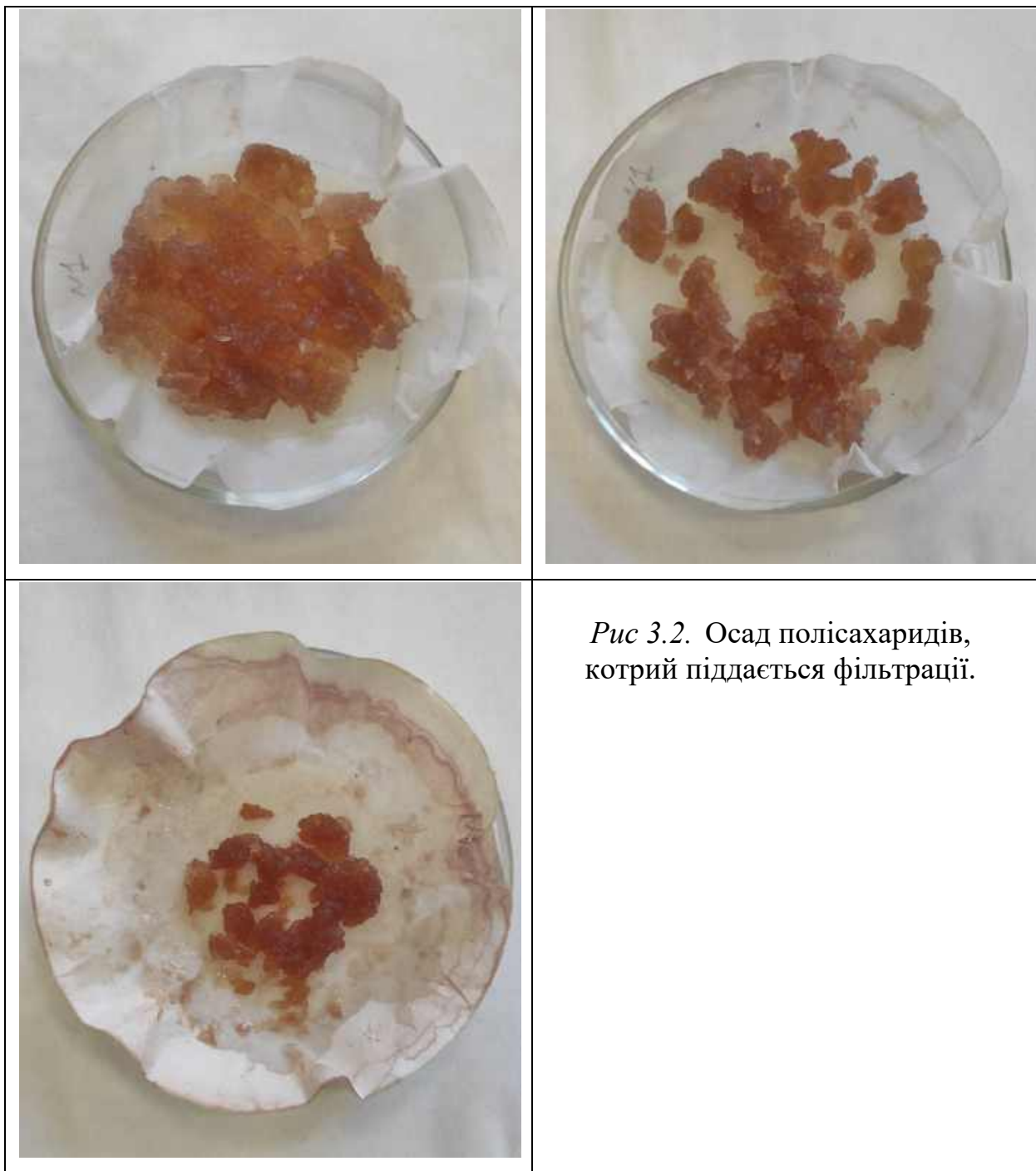
Для виділення фракцій ВРПС з рослинної сировини використовують очищену гарячу воду, нагріту на водяній бані. З повітряно-сухого шроту, що залишився після виділення поліфенольних сполук, екстрагують за допомогою 2 л очищеної гарячої води, яка наливається до рівня «дзеркала», і тримається протягом 1 години, постійно перемішуючи. Екстракцію проводять протягом 2 годин, двічі. Після завершення процесу екстрагування, водні витяжки після першої і другої екстракції фільтрують через фільтрувальний папір і об'єднують. Сировину стискають і проводять процес сушіння.



Рис 3.1. Осаджені полісахариди 3-кратним об'ємом 96% етанолу

Ці витяжки піддаються випарюванню на водяній бані у фарфорових чашах до досягнення об'єму, що становить 1/5 від початкового. Полісахариди

осаджуються, додавши 3-кратний об'єм 96% етанолу порівняно з об'ємом випареного витяжки. Отриманий осад піддається фільтрації за допомогою вакуумного водоструминного насоса, промивається 96% етанолом, сушиться і зважується.



Вихід ВРПС плодів смородини червоної сублімованих – $9,7 \pm 0,39\%$.

3.2. Одержання пектинових речовин (ПР).

Методика.

Для виділення фракції ПР з рослинної сировини, зокрема з сухого шроту, що залишився після вилучення ВРПС, використовують органічні кислоти та їх солі. Це означає використання суміші 0,5% розчинів щавлевої кислоти та оксалату амонію (у співвідношенні 1:1) як екстрагенту в пропорції 1:20 відносно сировини за температури 80–85 °С, тривалість екстрагування становить 2 години.

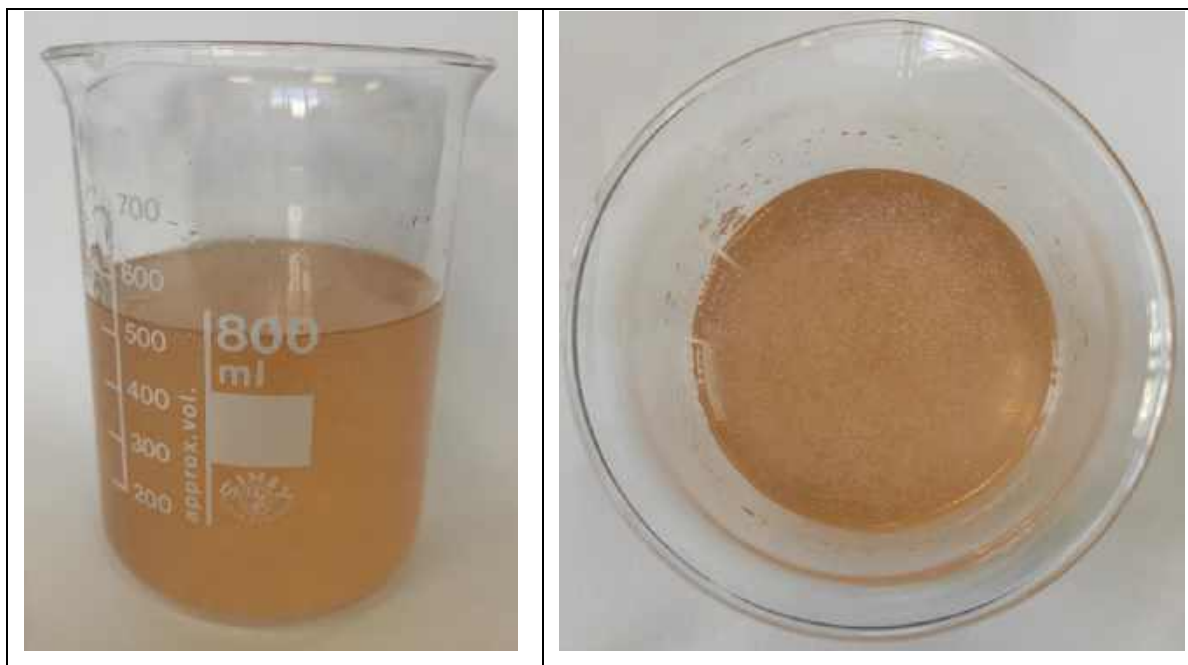


Рис 3.3. Осаджені пектини 3-кратним об'ємом 96% етанолу

Для проведення екстракції, сухий шрот РС розміщують у круглодонну колбу об'ємом 2 літри. Заливають колбу з сировиною сумішшю 0,5% розчинів щавлевої кислоти та оксалату амонію (у співвідношенні 1:1) і утримують при слабкому кипінні протягом 2 годин, проводячи екстрагування двічі. Після екстрагування, витяжки з першої та другої екстракцій проціджують через фільтрувальний папір та об'єднують. Якщо необхідно,

екстракт можна додатково очистити, пропустивши його через фільтрувальний папір. Сировину стискають та проводять процес сушіння.

Об'єднані витяжки після першої і другої екстракцій піддають упарюванню на водяній бані. З отриманих концентрованих екстрактів ПР проводять осадження, використовуючи 3-кратний об'єм 96% етанолу відносно упареної витяжки. Отриманий осад фільтрують на зваженому фільтрувальному папері, промивають його етанолом 96% в співвідношенні пектину до етилового спирту (1:1), проводять процес сушіння і зважують.

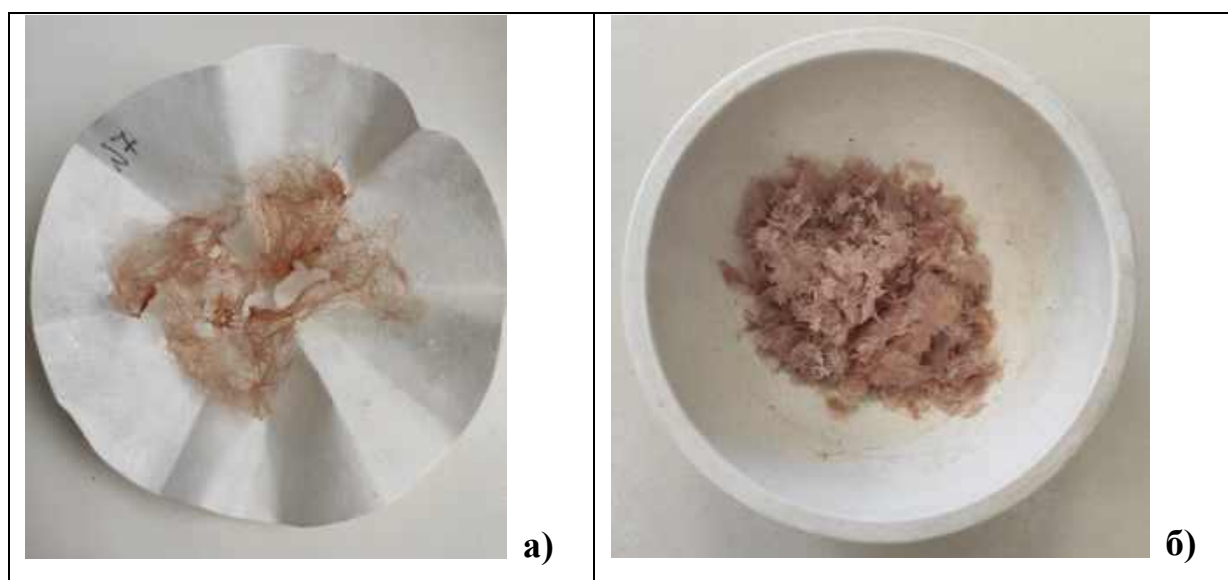


Рис 3.4. Відфільтрований та висушений осад пектинів: а) висушений ПР на фільтрувальному папері; б) подрібнені ПР.

Вихід пектинових речовин плодів смородини червоної сублімованих – $5,19 \pm 0,14\%$.

Таблиця 3.1.

Вихід фракцій водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин плодів смородини червоної сублімованих

Отримана фракція	Вихід, %
ВРПС	$9,7 \pm 0,39$
ПР	$5,19 \pm 0,14$

Таблиця 3.2.

**Вихід фракцій водорозчинних полісахаридів плодів смородини
червоної сублімованих**

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\epsilon, \%$
ВРПС									
5	4	9,60	9,721 1	0,0759333 00	0,123234 1	0,95	2,78	9,7±0,39 %	9,7211
		8,93							
		9,98							
		10,51							
		9,73							

Таблиця 3.3.

**Вихід фракцій пектинових речовин плодів смородини червоної
сублімованих**

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\epsilon, \%$
ПР									
5	4	5,32	5,190 1	0,0759333 00	0,123234 1	0,95	2,78	5,19±0,14 %	5,1901
		4,90							
		4,67							
		6,01							
		4,53							

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

Застосована методика дозволила успішно отримати водорозчинні полісахариди (ВРПС) з плодів сублімованої червоної смородини. Для виділення фракцій ВРПС використовувалась очищена гаряча вода, нагріта на водяній бані.

Вихід ВРПС з плодів сублімованої червоної смородини склав 9,7±0,39%. Отримані результати свідчать про успішне отримання ВРПС за

допомогою даної методики. Ці полісахариди можуть бути використані для подальших досліджень щодо їх структури, властивостей та потенційних застосувань у фармацевтичній, харчовій та інших галузях.

Методика, застосована для отримання пектинових речовин (ПР) з плодів сублімованої червоної смородини, виявилась ефективною. Для виділення фракції ПР з використанням сухого шроту, залишку після виділення водорозчинних полісахаридів (ВРПС), використовували суміш 0,5% розчинів щавлевої кислоти та оксалату амонію у співвідношенні 1:1.

Вихід пектинових речовин (ПР) з плодів сублімованої червоної смородини був встановлений як величина $5,19 \pm 0,14\%$. Отримані результати свідчать про успішність методики виділення ПР та вказують на можливість подальших досліджень стосовно властивостей і застосування цих пектинових речовин у харчовій, фармацевтичній та інших галузях.

РОЗДІЛ 4. ОТРИМАННЯ ГЕМІЦЕЛЮЛОЗ

Методика.

Після виділення ПР зі шроту, була виділена геміцелюлоза. Для екстракції проводили дві операції за допомогою 7% розчину натрію гідроксиду у співвідношенні 1:5 сировина-екстрагент при кімнатній температурі протягом 12 годин. Лужну витяжку було фільтровано, а фільтрат підкислювали оцтовою кислотою льодяною до випадіння осаду. Осад був відокремлений шляхом фільтрування, після чого його висушували до досягнення постійної маси, після чого він був зважений. Цим способом було отримано ГЦ А.

До отриманого фільтрату додавали двічі більше 96% етанолу, що призводило до утворення осаду. Осад було відокремлено шляхом фільтрування, після чого його промивали гарячим 96% етанолом і ацетоном. Після цього осад був висушений у сушильній шафі до досягнення постійної маси та зважений. При цьому отримали фракції ГЦ Б.

За допомогою формули визначали вміст кожної фракції (X, %) у відношенні до абсолютно сухої сировини:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 100000}{m \cdot (100 - W)},$$

де m_1 – маса фільтра, г;

m_2 – маса фільтра з осадом, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата у масі при висушуванні, %.

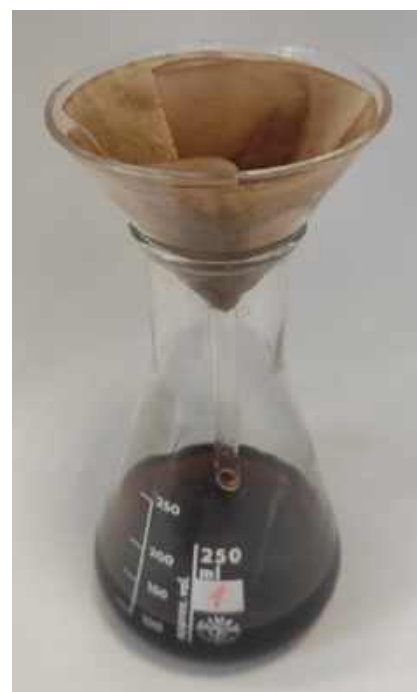


Рис 4.1. Фільтрування геміцелюлози Б

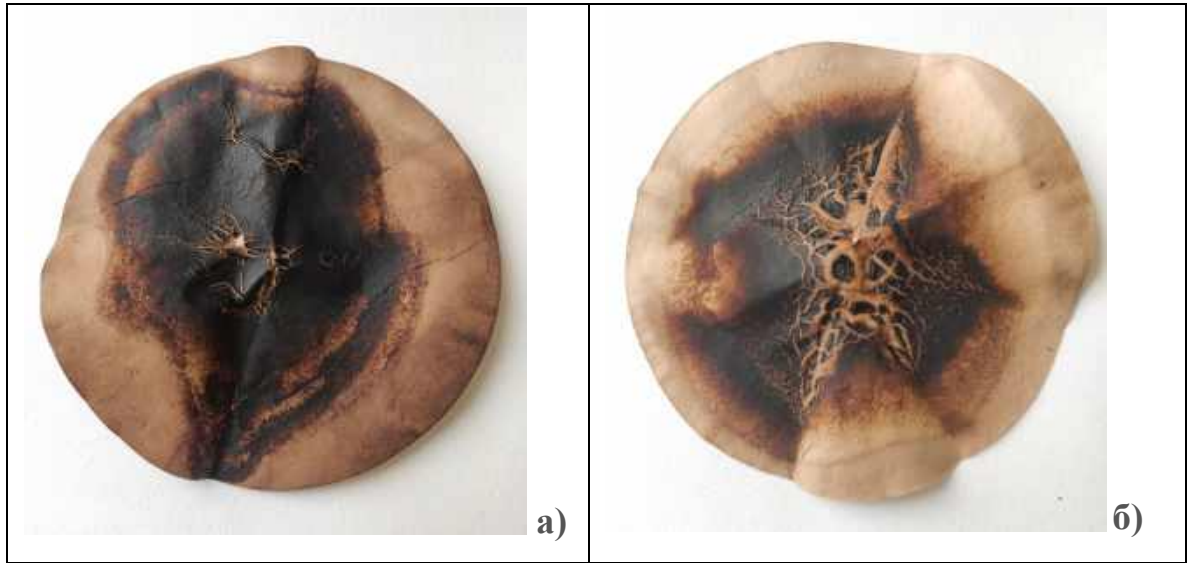


Рис 4.2. Отримана геміцелюлоза: а) ГЦ А; б) ГЦ Б.

Таблиця 4.1.

**Вихід фракцій геміцелюлоз плодів смородини червоної
сублімованих**

Отримана фракція	Вихід, %
ГЦ А	9,51±0,34
ГЦ Б	8,99±0,37

Таблиця 4.2.

**Вихід фракції геміцелюлози А плодів смородини червоної
сублімованих**

m	n	X _i	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε, %
ГЦ А									
5	4	9,19	9,510 5	0,0759333 00	0,123234 1	0,95	2,78	9,51±0,34 %	9,5105
		8,68							
		10,51							
		10,70							
		8,92							

Таблиця 4.3.

**Вихід фракції геміцелюлози Б плодів смородини червоної
сублімованих**

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\epsilon, \%$
ГЦ Б									
5	4	9,10	8,990 1	0,0759333 00	0,123234 1	0,95	2,78	8,99±0,37 %	8,9901
		8,83							
		10,52							
		10,39							
		8,42							

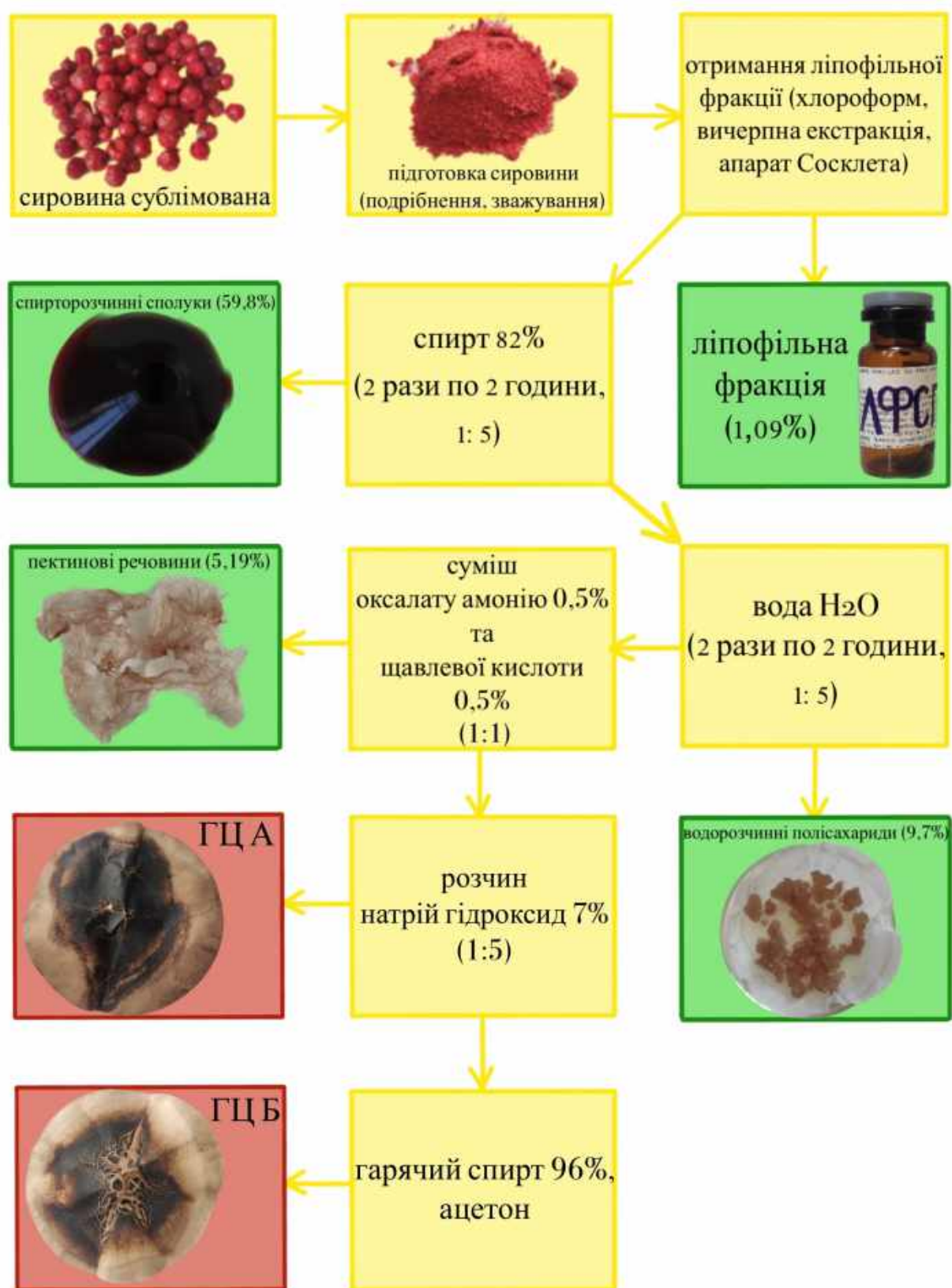


Рис 4.3. Схема фракціонування плодів смородини червоної сублимованих

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

У результаті проведених операцій виділення геміцелюлози зі шроту було отримано дві фракції галузкової целюлози (ГЦ) - ГЦ А і ГЦ Б. Для отримання ГЦ А, було проведено екстракцію шроту двічі за допомогою розчину натрію гідроксиду протягом 12 годин. Лужну витяжку було фільтровано, а фільтрат підкислювали оцтовою кислотою, що спричинило осадження. Осадок був відокремлений, висушений та зважений, отримуючи ГЦ А. Для отримання фракції ГЦ Б, до фільтрату додавали етанол, що приводило до утворення осаду. Осадок був відокремлений, промитий етанолом і ацетоном, висушений та зважений. Вміст кожної фракції (X, %) був визначений за відповідною формулою у відношенні до абсолютно сухої сировини.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Проведено аналіз літературних джерел. Була проведена аналітична оцінка, де надана коротка ботанічна характеристика, розкрито хімічний склад плодів смородини червоної, досліджено їх фармакологічні властивості, а також розглянуто протипоказання та можливі небажані реакції організму при використанні плодів смородини червоної. Був також вивчений метод фракціонування полісахаридів, метод сублімації та його переваги у збереженні поживних речовин.

2. Методом фракціонування було встановлено, що ліпофільної фракції в плодах червоної смородини сублімованих становить $16,2 \pm 0,53\%$.

3. Методом фракціонування було встановлено, що вихід спиртового екстракту з плодів червоної смородини сублімованих склав $59,8 \pm 1,49\%$.

4. Методом фракціонування було встановлено, що вихід водорозчинних полісахаридів з плодів червоної смородини сублімованих склав $9,7 \pm 0,39\%$.

5. Методом фракціонування було встановлено, що вихід пектинових речовин з плодів червоної смородини сублімованих був встановлений як величина $5,19 \pm 0,14\%$.

6. У даній роботі були отримані також геміцелюлози А та Б, кількісний вміст яких становив ГЦ А = $9,51 \pm 0,34\%$; ГЦ Б = $8,99 \pm 0,37\%$.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. X. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
2. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
3. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. X. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
4. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Доповнення 1. X. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
5. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Доповнення 2. X. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.
6. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Доповнення 3. X. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 416 с.
7. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Доповнення 4. X. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2020. – 600 с.

8. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Доповнення 5. X. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2021. 424 с.
9. Зберігання і переробка продукції рослинництва / [Подпрятів Г.І., Скалецька Л.Ф., Сеньков А.М., Хилевич В.С.]. – К.: Мета, 2002. – 495 с.
10. Методика підготовки та проведення лабораторних занять з фармакогнозії : навч.-метод. посіб. : у 2 т. / В.С. Кисличенко, С.М. Марчишин, З.І. Омельченко та ін.; за ред. В.С. Кисличенко, С.В. Огарь. – Тернопіль : ТДМУ, 2016. – Т.1. – 396 с.
11. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / [В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О.П. Хворост а ін.]; за ред. В.М. Ковальова, С.М. Марчишин. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. 264 с.
12. Фармакогнозія: базовий підруч. для студ. вищ. навч. закл. (фармац.ф-тів) IV рівня акредитації / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, С.М. Марчишин та ін.; за ред. В.С. Кисличенко. – Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2015. – 736 с. ; 16 с. кол. вкл. – (Національний підручник).
13. Ярних Т.Г., А.А.Котвіцька, Р.В.Сагайдак-Нікітюк. Вісник фармації рекомендована д.ф.н., професором Д.І.Дмитрієвськи, 2(62)2010.
14. Djordjević B, Savikin K, Zdunić G, Janković T, Vulić T, Oprarnica C, Radivojević D. Biochemical properties of red currant varieties in relation to storage. *Plant Foods Hum Nutr.* 2010 Dec;65(4):326-32. doi: 10.1007/s11130-010-0195-z.
15. Eid H.M., A combination of (+)-catechin and (-)-epicatechin underlines the in vitro adipogenic action of Labrador tea (*Rhododendron groenlandicum*), an antidiabetic medicinal plant of the Eastern James Bay Cree pharmacopoeia, *J. Ethnopharmacol.* 178 (2016) 251-257.
16. Elsadek MF, Almoajel A, Farahat MF. Ameliorative effects of ribes rubrum oil against gastric ulcers caused by indomethacin in experimental models. *Saudi J*

- Biol Sci. 2022 Jan;29(1):30-34. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.10.029. Epub 2021 Oct 22.
17. Flora of North America FNA | Family List | Vol. 8 | Grossulariaceae | Ribes Page 14.
 18. Goffman FD, Galletti S. Gamma-linolenic acid and tocopherol contents in the seed oil of 47 accessions from several Ribes species. J Agric Food Chem. 2001 Jan;49(1):349-54. doi: 10.1021/jf0006729. Erratum in: J Agric Food Chem 2001 Apr;49(4):2104.
 19. Gülmez G, Şen A, Şekerler T, Algül FK, Çilingir-Kaya ÖT, Şener A. The antioxidant, anti-inflammatory, and antiplatelet effects of Ribes rubrum L. fruit extract in the diabetic rats. J Food Biochem. 2022 Jul;46(7):e14124. doi: 10.1111/jfbc.14124. Epub 2022 Mar 16.
 20. Ham J.R., Anti-steatotic and anti-inflammatory roles of syringic acid in high-fat diet-induced obese mice, Food Funct. 7 (2016) 689-697.
 21. Hassan Al-Haj Ibrahim. Fractionation. January 2019.
 22. Hirano M, Sato N, Abe K. Characterization of Ribes rubrum callus cultured under low temperature. J Biosci Bioeng. 1999;88(4):416-20. doi: 10.1016/s1389-1723(99)80219-9.
 23. Jiang R., Chlorogenic acid improves ex vivo vessel function and protects endothelial cells against HOCl-induced oxidative damage, via increased production of nitric oxide and induction of Hmox-1, J. Nutr. Biochem. 27 (2016) 53-60.
 24. Jung F.S., A metabolomics approach shows that chatechin-enriched green tea attenuates ultraviolet B-induced skin metabolite alterations in mice, Metabolomics. 11 (2015) 861-871.
 25. Jung J.S., Protective effects of a dimeric derivative of ferulic acid in animal models of Alzheimer's disease, J. Pharmacol. 782 (2016) 30-34.
 26. Kuźniar, P.; Belcar, J.; Zardzewiały, M.; Basara, O.; Gorzelany, J. Effect of Ozonation on the Mechanical, Chemical, and Microbiological Properties of

- Organically Grown Red Currant (*Ribes rubrum* L.) Fruit. *Molecules* 2022, 27, 8231.
27. Lee M., E.G. McGeer, P.L. McGeer, Quercetin, not caffeine, is a major neuroprotective component in coffee, *Neurobiol. Aging*. 46 (2016) 113-123.
28. Liu X, Feng Q, Yang L, Xu Q. [Cloning and expression of *dfr* in *Ribes* L. during fruit maturation]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. 2020 Aug 25;36(8):1620-1628. Chinese.
29. Marcin M., L. Bogdan, Cinnamic acid derivatives and inhibitors of oncogenic protein kinases structure, mechanism and biomedical effects, *Curr. Med. Chem.* 10 (2016) 954-982.
30. Murray M., Green tea catechins and cardiovascular disease risk factors: Should a health claim be made by the United States Food and Drug Administration?, *Trends Food Sci. Technol.* 41 (2015) 188-197.
31. Nasiri F. et al., Rutin enhances the antiproliferative effect of 5-FU and oxaliplatin in colon cancer cells, *Cancer Res.* 76 (2016).
32. Park E., H. Lee, Ferrulic acid as a natural bioactive compound enhances PARP inhibitor sensitivity in breast cancer, *Cancer Res.* 76 (2016) 1338.
33. Plants for a future. *Ribes rubrum* - L. pro parte sense Jancz.
34. Punithavathi V.R., Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats, *Eur. J. Pharmacol.* 650 (2011) 465-471.
35. Rizwana H, Alwhibi MS, Al-Judaie RA, Aldehaish HA, Alsaggabi NS. Sunlight-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using the Berries of *Ribes rubrum* (Red Currants): Characterisation and Evaluation of Their Antifungal and Antibacterial Activities. *Molecules*. 2022 Mar 28;27(7):2186. doi: 10.3390/molecules27072186.
36. Royal botanic gardens, Kew, *Ribes rubrum*.
37. Schwarz B, Hofmann T. Isolation, structure determination, and sensory activity of mouth-drying and astringent nitrogen-containing phytochemicals isolated

- from red currants (*Ribes rubrum*). *J Agric Food Chem.* 2007 Feb 21;55(4):1405-10. doi: 10.1021/jf0632076. Epub 2007 Jan 30.
38. Schwarz B, Hofmann T. Sensory-guided decomposition of red currant juice (*Ribes rubrum*) and structure determination of key astringent compounds. *J Agric Food Chem.* 2007 Feb 21;55(4):1394-404. doi: 10.1021/jf0629078.
39. Starkevič P, Ražanskienė A, Starkevič U, Kazanavičiūtė V, Denkovskienė E, Bendokas V, Šikšnianas T, Rugienius R, Stanys V, Ražanskas R. Isolation and Analysis of Anthocyanin Pathway Genes from *Ribes* Genus Reveals MYB Gene with Potent Anthocyanin-Inducing Capabilities. *Plants (Basel).* 2020 Aug 22;9(9):1078. doi: 10.3390/plants9091078.
40. Sumić Z, Vakula A, Tepić A, Čakarević J, Vitas J, Pavlić B. Modeling and optimization of red currants vacuum drying process by response surface methodology (RSM). *Food Chem.* 2016 Jul 15;203:465-475. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.109. Epub 2016 Feb 16.
41. Sun J., Neuroprotective effects of gallic acid against hypoxia/reoxygenation-induced mitochondrial dysfunction in vitro and cerebral ischemia/reperfusion injury in vivo, *Brain Res.* 1589 (2014) 126-139.
42. Sun X., The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films, *Food Sci. Tech.* 57 (2014) 83-89.
43. Taram F., A.N. Witer, D.A. Linseman, Neuroprotection comparison of chlorogenic acid and its metabolites against mechanistically distinct cell death-inducing agents in cultured cerebellar granule neurons, *Brain Res.* 1648 (2016) 69-80.
44. Tokmak M., The axon protective effects of syringic acid on ischemia/reperfusion injury in a rat sciatic nerve model, *J. Turk. Neurosurg.* 27(1) (2017).
45. Vakula, A.; Radojčin, M.; Pavkov, I.; Stamenković, Z.; Tepić Horecki, A.; Šumić, Z.; Pavlić, B. The impact of different drying methods on quality

- indicators of red currants (*Ribes rubrum* L.). *J.Process. Energy Agric.* 2015, 19, 249–254.
46. Vuorinen AL, Kalpio M, Linderborg KM, Hoppula KB, Karhu ST, Yang B, Kallio HP. Triacylglycerol biosynthesis in developing *Ribes nigrum* and *Ribes rubrum* seeds from gene expression to oil composition. *Food Chem.* 2016 Apr 1;196:976-87. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.010. Epub 2015 Oct 9.
47. Wang Y., Protective effect of quercetin against visible light-induced retinal degeneration in vivo, *FASEB J.* 30 (2016).
48. Zitko V., Bishop C. T.. Fractionation of pectins from sunflowers, sugar beets, apples, and citrus fruits. *Canadian Journal of Chemistry*, 1965. № 43(12). pp.3206-3214.

SUMMARY

Bendiuk Anna

STUDY OF RED CURRANT FRUITS SUBLIMED BY THE FRACTIONATION METHOD

Department of pharmacognosy and botany

Scientific supervisor: Prof. Karpiuk U.V.

Keywords: Red currant, fruits, sublimation, fractionation

Introduction. An analysis of literary sources was carried out. An analytical assessment was conducted, where a brief botanical description was given, the chemical composition of red currant fruits was revealed, their pharmacological properties were investigated, and contraindications and possible unwanted reactions of the body when using red currant fruits were considered. The polysaccharide fractionation method, the sublimation method and its advantages in preserving nutrients were also studied.

Materials and methods. Using the fractionation method, it was established that the lipophilic fraction in sublimated red currant fruits is $16.2 \pm 0.53\%$.

Using the fractionation method, it was established that the yield of alcohol extract from sublimated red currant fruits was $59.8 \pm 1.49\%$.

Results. Using the fractionation method, it was established that the yield of water-soluble polysaccharides from sublimated red currant fruits was $9.7 \pm 0.39\%$.

Using the fractionation method, it was established that the yield of pectin substances from sublimated red currant fruits was determined to be $5.19 \pm 0.14\%$.

Conclusions. In this work, hemicelluloses A and B were also obtained, the quantitative content of which was HC A = $9.51 \pm 0.34\%$; HC B = $8.99 \pm 0.37\%$.