

УДК 615.322:543.422.3
AGRIS F60

<https://doi.org/10.33619/2414-2948/122/20>

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ В ТРАВЕ МНОГОКОЛОСНИКА МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

©**Курдюков Е. Е.**, ORCID: 0000-0001-9512-6770, SPIN-код: 2859-4063, канд. фарм. наук,
Пензенский государственный университет, г. Пенза, Россия, e.e.kurdyukov@mail.ru

©**Митишев А. В.**, ORCID: 0000-0002-3327-9744, SPIN-код: 2831-1792,
Пензенский государственный университет, г. Пенза, Россия, span2361@rambler.ru

©**Финаёнова Н. В.**, SPIN-код: 5361-5589, Пензенский государственный университет,
г. Пенза, Россия, finayonova.nv@mail.ru

©**Акмайкина А. Э.**, Пензенский государственный университет,
г. Пенза, Россия, akmmay@mail.ru

©**Кофлюк Д. Р.**, Пензенский государственный университет,
г. Пенза, Россия, kofluk.com@gmail.com

QUANTITATIVE DETERMINATION OF PIGMENTS IN AGASTACHE GRASS BY SPECTROPHOTOMETRY

©**Kurdyukov E.**, ORCID: 0000-0001-9512-6770, SPIN-code: 2859-4063, Ph.D.,
Penza State University, Penza, Russia, e.e.kurdyukov@mail.ru

©**Mitishhev A.**, ORCID: 0000-0002-3327-9744, SPIN-code: 2831-1792,
Penza State University, Penza, Russia, span2361@rambler.ru

©**Finayonova N.**, SPIN-код: 5361-5589, Penza State University,
Penza, Russia, finayonova.nv@mail.ru

©**Akmajkina A.**, Penza State University, Penza, Russia, akmmay@mail.ru

©**Koflyuk D.**, Penza State University, Penza, Russia, kofluk.com@gmail.com

Аннотация. В работе проведено количественное определение суммы хлорофиллов в траве многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* L.) методом спектрофотометрии. Разработаны оптимальные условия экстракции пигментов, обеспечивающие максимальный выход целевых соединений. Показано, что эффективная экстракция достигается при использовании 95% этилового спирта (соотношение сырья:экстрагент 1:30), степени измельчения 1 мм и времени экстракции 90 минут. Идентифицирован хлорофилл а как доминирующий пигмент (аналитическая длина волны 664 ± 2 нм). Максимальное содержание суммы хлорофиллов в траве многоколосника морщинистого составило 9,30%, что свидетельствует о перспективности данного растения как источника ценных пигментов.

Abstract. The quantitative determination of the amount of chlorophylls in the grass of the *Agastache rugosa* by spectrophotometry was carried out. Optimal pigment extraction conditions have been developed to maximize the yield of the target compounds. It has been shown that effective extraction is achieved using 95% ethyl alcohol (raw material:extractant ratio 1:30), a grinding degree of 1 mm and an extraction time of 90 minutes. Chlorophyll a has been identified as the dominant pigment (analytical wavelength 664 ± 2 nm). The maximum amount of chlorophylls in the grass of the wrinkled mulberry was 9.30%, which indicates the prospects of this plant as a source of valuable pigments.

Ключевые слова: многоколосник морщинистый, *Agastache rugosa*, трава, хлорофилл а, спектрофотометрия, экстракты.

Keywords: *Agastache rugosa*, herb, chlorophyll a, spectrophotometry, extracts.

В настоящее время не угасает интерес к лекарственным растительным препаратам, которые могут использоваться в терапии различных заболеваний наряду с препаратами синтетического происхождения. Фитохимический анализ выявляет присутствие в многоколоснике морщинистом (лофант тибетский) биологически активных соединений, таких как флавоноиды, эфирные масла, фенилпропаноиды, сапонины и фенольные соединения, что повышает его лекарственную ценность [4, 5].

Исследования подтверждают, что экстракты многоколосника обладают бактерицидным, жаропонижающим, иммуностимулирующим и общеукрепляющим действиями [3].

Лечебное действие лекарственных растений зависит от содержания в них комплекса биологически активных веществ. Травы многоколосника содержат комплекс природных пигментов, основными из которых являются производные хлорофилла и каротиноиды, представленные β -каротином и хлорофиллом а [4, 5, 10].

Эти биологически активные соединения, отличающиеся значительными функциональными и структурно-активными свойствами, играют решающую роль в различных отраслях промышленности, таких как фармацевтика, нутрицевтики и пищевая промышленность. Хлорофилл проявляет противовоспалительное, ранозаживляющее и антибактериальное действие, а также является хорошим антиоксидантом, замедляющим процессы старения [7-11].

Материал и методы исследования

Объектами исследования служили образцы экстрактов из травы многоколосника. Качественный анализ суммы хлорофиллов проводили методом тонкослойной хроматографии из ацетоновой фракции, в следующей системе растворителей: петролейный эфир – ацетон (6:4).

Для количественного определения хлорофиллов в извлечениях из сырья многоколосника использовали спектрофотометрический метод. Около 3 г травы многоколосника помещали в колбу вместимостью 100 мл и экстрагировали с 60 мл экстрагента, присоединяли к обратному холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане в течение 90 минут с момента закипания экстрагента в колбе.

После охлаждения полученные извлечения фильтровали через бумажный фильтр, смоченный тем же экстрагентом (раствор А).

Затем фильтровали через бумажный фильтр. 3 мл извлечения в мерную колбу на 25 мл. В качестве раствора сравнения использовали 95% спирт. Определяли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-103 при длине волны 664 нм [2, 6, 7].

Результаты и обсуждение

Определение содержания суммы хлорофилла в траве многоколосника морщинистого в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times 60 \times 25 \times 100 \times 100}{a \times 944,5 \times 3 \times (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора; а – навеска сырья, г; 944,5 – удельный показатель поглощения хлорофилла при 664 нм; W – потеря в массе при высушивании, %. На хроматографических пластинках обнаружили зоны адсорбции от жёлтого до ярко-зеленого цвета. Полученные значения R_f сравнивали со стандартными значениями, описанными в литературе [1, 5, 6, 9, 10].

В системе петролейный эфир – ацетон (6:4) обнаружили две зоны адсорбции зеленого и желто-зеленого цвета с R_f 0,9 и R_f 0,08 соответствующие хлорофиллу а и хлорофиллу b.

Количественное определения хлорофилла в траве лофанта проводили методом УФ-спектрофотометрии [2, 5, 6, 9].

Важной особенностью спектра поглощения хлорофилла а служит наличие ярко выраженного максимума при 664 нм (Рисунок 1).

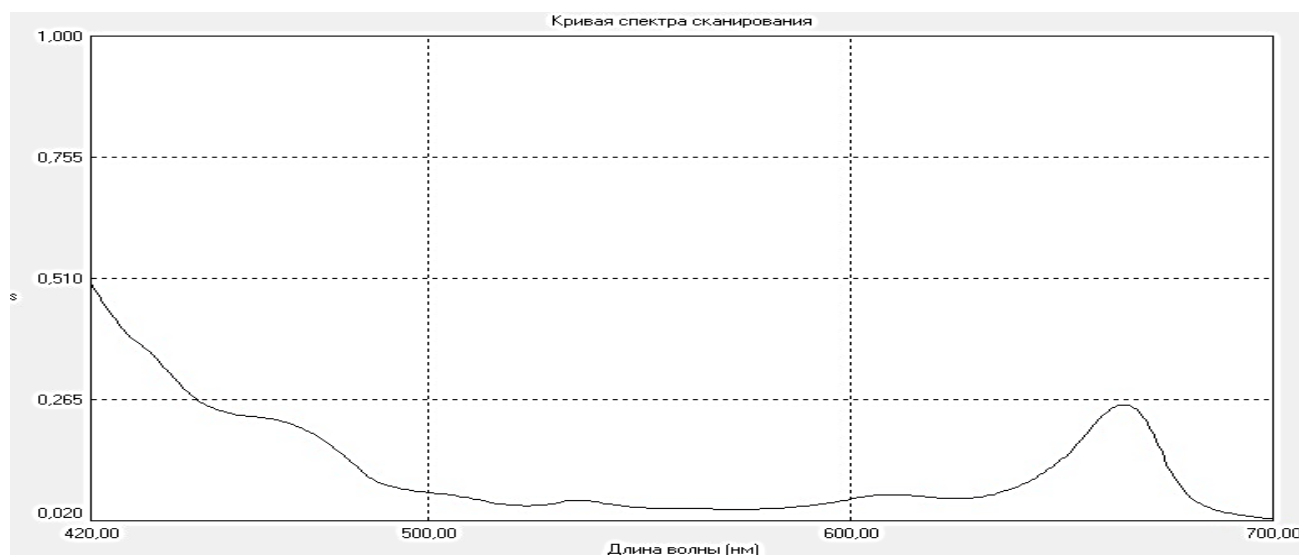


Рисунок 1. Электронный спектр спиртового раствора извлечения из травы многоколосника

С целью пересчета содержания суммы хлорофилла в экстрактах из травы многоколосника на хлорофилл а нами был использован удельный показатель поглощения хлорофилла а при $\lambda=664$ нм для прямой спектрофотометрии [2, 5, 6, 9].

Значение $E_{1\text{см}}^{1\%} = 944,5$ было включено в формулу расчета, что позволило не использовать СО хлорофилла а в последующих определениях.

При разработке методики количественного анализа хлорофилла а в траве многоколосника выявлены оптимальные условия экстракции: степень измельчения сырья – 1 мм, экстрагент – 95% спирт этиловый, соотношение сырья и экстрагента – 1:30, время экстракции – 90 мин на водяной бане, температура – 90°C (Таблица 1, 2).

Таблица 1

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА ХЛОРОФИЛЛА ТРАВЫ МНОГОКОЛОСНИКА
ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭКСТРАГЕНТА

Концентрация экстрагента	Содержание суммы хлорофилла, %
Гексан	0,45±0,07
Ацетон	3,10±0,21
Гексан-ацетон (1:2)	2,58±0,20
Этанол 95%	7,22±0,23

Для экстракции хлорофилла из травы многоколосника целесообразно использование этанола 95%, так как интенсивность пиков в других экстрактах меньше, по сравнению 95%, при условии одинаковых навесок и условий экстракции.

Результаты исследований по выбору оптимального соотношения «сырье-экстрагент» приведены в Таблице 3. Оптимальными параметрами экстракции являются: извлечение 95 % этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 90 минут в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:30.

Таблица 2

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА ХЛОРОФИЛЛА ТРАВЫ МНОГОКОЛОСНИКА ОТ СООТНОШЕНИЯ
«СЫРЬЕ-ЭКСТРАГЕНТ»

Соотношение «сырье-экстрагент»	Содержание суммы хлорофилла, %
1:20	4,34±0,19%
1:30	7,22±0,23%
1:60	5,91±0,22%

Таблица 3

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА ХЛОРОФИЛЛА ТРАВЫ МНОГОКОЛОСНИКА ОТ ВРЕМЕНИ
НАСТАИВАНИЯ НА КИПЯЩЕЙ ВОДЯНОЙ БАНЕ

Время настаивания на кипящей водяной бане, мин	Содержание суммы хлорофилла, %
30	7,22±0,23
60	8,28±0,19
90	9,30±0,25
120	8,76±0,17

Зависимость выхода биологически активных соединений из многоколосника от степени измельченности сырья представлена в Таблице 4. Следует отметить, что степень измельчения от 0,5 до 2 мм сильного влияния на экстракцию не оказывает. Однако в качестве оптимальной выбрана степень измельчения 1 мм. Выявлено, что содержание хлорофилла, при использовании в качестве экстрагента этанола 95% составляет 9,30%.

Таблица 4

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА ХЛОРОФИЛЛА ТРАВЫ МНОГОКОЛОСНИКА
ОТ СТЕПЕНИ ИЗМЕЛЬЧЕННОСТИ СЫРЬЯ

Размер частиц, мм	Содержание суммы хлорофилла, %
0,5	9,19±0,24
1	9,30±0,25
2	9,25±0,21
3	9,17±0,24

Таблица 4

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СУММЫ ХЛОРОФИЛЛА ТРАВЫ МНОГОКОЛОСНИКА

ЛРС	F	\bar{X}	S ²	S	P, %	t (P, f)	$\Delta \bar{X}$	E, %
Трава	5	9,30	0,03967	0,199173	95	2,776	±0,099	±2,65

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы хлорофилла в сырье многоколосника методом прямой спектрофотометрии указаны в Таблице 4. Результаты статистической обработки полученных результатов свидетельствуют о том, что средняя ошибка определения с доверительной вероятностью 95% составляет не более ±2,65% при определении суммы хлорофилла методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорофилл а.

Заключение

Методом спектрофотометрии определено суммарное содержание пигментов (прямая спектрофотометрия), определены параметры УФ-спектра водно-спиртового извлечения из травы многоколосника максимум при $\lambda=664\pm2$ нм. Для экстракции хлорофилла из травы

многоколосника целесообразно использование этанола 95%. Содержание хлорофилла в сырье, равное 9,30%, достигается применением подобранных условий экстракции: степень измельчения – 1 мм, экстрагент – 95% этанол, соотношение «сырье – экстрагент» 1:30 и экстракцией на кипящей водяной бане в течение 90 минут.

Финансирование: Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда, проект №24-25-20155.

Список литературы:

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. <https://femb.ru/record/pharmacopea14>
2. Ковалева Н. А., Тринеева О. В., Колотнева А. И. Разработка и валидация методики количественного определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2023. №1. С. 199-207.
3. Котугин Е. К., Карпухин М. Ю. Лофант тибетский. Лекарственная культура многопланового использования // Молодежь и наука. 2019. №9. С. 33.
4. Мадебейкин И. И., Мадебейкин И. Н. Лофант тибетский // Пчеловодство. 2024. №4. С. 22.
5. Симаков Д. А., Пояркова Н. М. Химический состав надземной биомассы лопуха тибетского (*Lophanthus tibeticus*) // Ландшафтный дизайн и декоративное садоводство: сборник тезисов. Екатеринбург, 2020. С. 42-43.
6. Сливкин А. И., Селеменов В. Ф., Суховерхова Е. А. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств. Воронеж, 1999. 368 с.
7. Achour H. Y., Llamero C. B., Saadi S. A., Bouras N., Zitouni A., Señoráns J. Pressurized liquid extraction for the recovery of carotenoids and functional compounds from green and orange *Dunaliella salina* biomasses // Periodica Polytechnica Chemical Engineering. 2023. V. 67. №2. P. 278-286. <https://doi.org/10.3311/PPch.21386>
8. Ahmad N., Mounsef J. R., Lteif R. A simple and fast experimental protocol for the extraction of xanthophylls from microalga *Chlorella luteoviridis* // Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2021. V. 51. №10. P. 1071-1075. <https://doi.org/10.1080/10826068.2021.1901231>
9. Azmir J., Zaidul I. S. M., Rahman M. M., Sharif K. M., Mohamed A., Sahena F., Omar A. K. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review // Journal of food engineering. 2013. V. 117. №4. P. 426-436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
10. Georgiopoulou I., Tzima S., Louli V., Magoulas K. Process optimization of microwave-assisted extraction of chlorophyll, carotenoid and phenolic compounds from *Chlorella vulgaris* and comparison with conventional and supercritical fluid extraction // Applied Sciences. 2023. V. 13. №4. P. 2740. <https://doi.org/10.3390/app13042740>
11. Ebrahimi P., Shokramraji Z., Tavakkoli S., Mihaylova D., Lante A. Chlorophylls as natural bioactive compounds existing in food by-products: a critical review // Plants. 2023. V. 12. №7. P. 1533. <https://doi.org/10.3390/plants12071533>

References:

1. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii XIV izdaniya. (in Russian). <https://femb.ru/record/pharmacopea14>
2. Kovaleva, N. A., Trineeva, O. V., & Kolotneva, A. I. (2023). Razrabotka i validatsiya metodiki kolichestvennogo opredeleniya karotinoidov i khlorofillov v list'yakh oblepikhi krushinovidnoi. *Vestnik Smolenskoii gosudarstvennoi meditsinskoi akademii*, (1), 199-207. (in Russian).

3. Kotugin, E. K., & Karpukhin, M. Yu. (2019). Lofant tibetskii. Lekarstvennaya kul'tura mnogoplanovogo ispol'zovaniya. *Molodezh' i nauka*, (9), 33. (in Russian).
4. Madebeikin, I. I., & Madebeikin, I. N. (2024). Lofant tibetskii. *Pchelovodstvo*, (4), 22. (in Russian).
5. Simakov, D. A., & Poyarkova, N. M. (2020). Khimicheskii sostav nadzemnoi biomassy lofanta tibetskogo (*Lophanthus tibeticus*). In *Landshaftnyi dizain i dekorativnoe sadovodstvo: sbornik tezisov*, Ekaterinburg, 42-43. (in Russian).
6. Slivkin, A. I., Selemenov, V. F., & Sukhoverkhova, E. A. (1999). Fiziko-khimicheskie i biologicheskie metody otsenki kachestva lekarstvennykh sredstv. Voronezh. (in Russian).
7. Achour, H. Y., Llamero, C. B., Saadi, S. A., Bouras, N., Zitouni, A., & Señoráns, J. (2023). Pressurized liquid extraction for the recovery of carotenoids and functional compounds from green and orange *Dunaliella salina* biomasses. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 67(2), 278-286. <https://doi.org/10.3311/PPCh.21386>
8. Ahmad, N., Mounsef, J. R., & Lteif, R. (2021). A simple and fast experimental protocol for the extraction of xanthophylls from microalga *Chlorella luteoviridis*. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 51(10), 1071-1075. <https://doi.org/10.1080/10826068.2021.1901231>
9. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
10. Georgiopoulou, I., Tzima, S., Louli, V., & Magoulas, K. (2023). Process optimization of microwave-assisted extraction of chlorophyll, carotenoid and phenolic compounds from *Chlorella vulgaris* and comparison with conventional and supercritical fluid extraction. *Applied Sciences*, 13(4), 2740. <https://doi.org/10.3390/app13042740>
11. Ebrahimi, P., Shokramraji, Z., Tavakkoli, S., Mihaylova, D., & Lante, A. (2023). Chlorophylls as natural bioactive compounds existing in food by-products: a critical review. *Plants*, 12(7), 1533. <https://doi.org/10.3390/plants12071533>

Поступила в редакцию
27.11.2025 г.

Принята к публикации
07.12.2025 г.

Ссылка для цитирования:

Курдюков Е. Е., Митишев А. В., Финаёнова Н. В., Акмайкина А. Э., Кофлюк Д. Р. Количественное определение пигментов в траве многоколосника методом спектрофотометрии // Бюллетень науки и практики. 2026. Т. 12. №1. С. 155-160. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/122/20>

Cite as (APA):

Kurdyukov, E., Mitishev, A., Finayonova, N., Akmajkina, A., & Koflyuk, D. (2026). Quantitative Determination of Pigments in Agastache Grass by Spectrophotometry. *Bulletin of Science and Practice*, 12(1), 155-160. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/122/20>