

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри

Барановський М.М. \_\_\_\_\_

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 р.

## ДИПЛОМНА РОБОТА

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТР

ЗА НАПРЯМОМ 6.051401 « БІОТЕХНОЛОГІЯ »

**Тема: «Характеристика алоїну та його похідних Алое (*Aloe*) в залежності від  
місяця зростання»**

Виконавець: студент 203гр., ННІЕБ

Чайка Д. А.

Керівник: д.б.н., професор

Гаркава К.Г.

Консультант розділу «Охорона праці»

Павлиш В.Д.

Нормоконтролер

Лазарєв В.Г.

КИЇВ 2020

# НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Навчально-науковий інститут екологічної безпеки

Кафедра біотехнології

Напрямок 6.051401 «Біотехнологія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Барановський М.М. \_\_\_\_\_

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 р.

## ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Чайки Дмитра Анатолійовича

1. Тема дипломної роботи: «Характеристика алоїну та його похідних Алое (*Aloe*) в залежності від місця зростання»

затверджена наказом ректора від «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 р. № \_\_\_\_/ст.

2. Термін виконання роботи: з 14 жовтня по 3 лютого 2020 року.

3. Вихідні дані до роботи: аналіз літературних джерел.

4. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП; РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД; РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ; РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА; РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ; РОЗДІЛ 5 ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА; ВИСНОВКИ; СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.

5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: 1 таблиці, 3 рисунків.

## 6. Календарний план-графік

№ пор.	Завдання	Термін виконання
1.	Розробка разом з науковим керівником графіку виконання бакалаврської дипломної роботи	
2.	Пошук та аналіз літературних джерел за темою роботи	
3.	Підготовка основної частини (Розділ 1)	
4.	Підготовка основної частини (Розділ 2)	
5.	Підготовка основної частини (Розділ 3)	
6.	Підготовка розділу з охорони навколишнього середовища. Підготовка розділу з охорони праці	
7.	Формування висновків та оформлення дипломної роботи	
8.	Робота над доповіддю та презентацією	

## 7. Консультанти роботи з окремих розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
Охорона праці			
Охорона навколишнього середовища			

## 8. Дата видачі завдання: «15» жовтня 2019р

Керівник дипломної роботи: \_\_\_\_\_  
(підпис керівника)

Гаркава К. Г.  
(П.І.Б.)

Завдання прийняв до виконання: \_\_\_\_\_  
(підпис випускника)

Чайка Д. А.  
(П.І.Б.)

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Характеристика алоїну та його похідних Алое (*Aloe*) в залежності від місця зростання»: 57 сторінок, 3 рисунків, 1 таблиця, 27 використаних джерел.

АЛОЕ, БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ, АЛОЇН, АЛОЕ ВЕРА, АНТРИГЛІКОЗИД, АНТРИХІНОН, АЛОЕ-ЕМОДИН.

**Мета роботи.** Проаналізувати як вміст та якість алоїну – біологічно активної сполуки алое залежать від місця його зростання;

**Об'єкт дослідження** – залежність вирощування алое від агрокліматичних впливів.

**Предмет дослідження** – алое, алоїн.

**Методи дослідження** – аналіз літературних даних, фізико-хімічні, біотехнологічні.

# ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ .....	8
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	11
1.1 Опис та характеристика алое .....	11
1.1.1 Хімічний склад .....	13
1.1.2 Побічні ефекти .....	14
1.2 Алоїн.....	15
1.2.1 Структура алоїна та його екстракція .....	17
1.2.2 Ефекти при вживанні алоїну.....	18
1.2.3 Безпечність та легальність алоїну .....	19
1.2.4 Фармакологічна активність.....	20
1.2.5 Антимікробна активність .....	20
1.2.6 Антиоксидантна та протипухлинна активність .....	21
1.2.7 Вплив алоїну на біодоступність .....	21
1.2.8 Вплив сезонних змін на вміст алоїну.....	22
1.2.9 Аналітичні методи барбалуїну .....	23
1.3 Алое як альтернатива в лікуванні малярії .....	25
1.3 Висновки до розділу .....	27
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	28
2.1 Методи.....	28
2.3 Збір рослин.....	28

2.4 Високоєфективна тонкошарова хроматографія .....	30
2.4.1 Сорбенти .....	30
2.4.2 Розчинники .....	32
2.4.3 Підготовка пластин .....	33
2.4.4 Техніка нанесення досліджуваних розчинів .....	33
2.5 Висновки до розділу .....	35
<b>РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА .....</b>	<b>36</b>
3.1 Приготування екстракту .....	37
3.2 Вилучення алоїну .....	38
3.3 Високоєфективна тонкошарова хроматографія -аналіз .....	39
3.4 Аналіз денситометрії ВТХ .....	40
3.5 Мінімальна інгібіторна концентрація .....	41
3.6 Статистичний аналіз .....	42
3.7 Результати .....	43
3.8 Висновки до розділу .....	43
<b>РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ .....</b>	<b>44</b>
4.1. Вступ.....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
4.2. Аналіз умов праці в .....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
4.2.1. Організація робочого місця.....	44
4.2.2. Небезпечні та шкідливі фактори виробництва .....	46
4.2.3. Аналіз небезпечних та шкідливих факторів виробництва .....	47
4.3. Заходи щодо зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих факторів виробництва .....	48

4.4. Забезпечення пожежної безпеки на виробництві .....	52
4.5. Розрахунок .....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
4.6. Висновки до розділу .....	53
<b>РОЗДІЛ 5 ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА .....</b>	<b>54</b>
5.1 Літературний огляд .....	54
5.2 Розрахунок .....	55
5.3 Висновки до розділу .....	57
<b>ВИСНОВКИ .....</b>	<b>57</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....</b>	<b>59</b>

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ**

ВТХ - високоефективна тонкошарова хроматографія;

БАР - біологічно активні речовини;

FDA - управління продовольства і медикаментів США;

ТУ – технічні умови;

МІК - мінімальна інгібіторна концентрація;

ВООЗ - всесвітня організація охорони здоров'я;

IASC - Міжнародна наукова рада з алое.



## ВСТУП

### **Актуальність теми.**

Алое дуже корисна рослина, що володіє цілющою дією та має великий перелік біологічно активних речовин. Його застосовують зовнішньо і всередину при різних захворюваннях і травмах: опіках, застудах, астмі, туберкульозі, запорах, анемії і ін.

Ця рослина сприяє підвищенню імунітету, опірності організму несприятливих умов навколишнього середовища, є хорошим тонізуючим засобом. Сік цієї рослини також включають до складу різних косметичних засобів.

Найважливішою характеристикою цих речовин є їхня біологічна активність, яка залежить від рівня рН середовища, температури і може втрачатись у процесі нагрівання внаслідок підвищення температур.

Алоїн (алоїн) - це С-глюкозид антрону алое емодин, має різноманітну фармакологічну активність, таку як сильну інгібуючу дію на вивільнення гістаміну, протизапальну, катартичну, протівірусну, протимікробну, протиракову, антиоксидантну активність та альтернативу фармацевтичним або косметичним застосуванням. Пік кількості алоїну був досягнутий приблизно через 3 години після перорального прийому. Показано, що концентрація барвалоїну в листках алое вера залежить від частини листя, віку та положення листка. Молоде листя містить більше алоїну порівняно зі старим. Було проведено різноманітні дослідження, але все ще взаємозв'язок між барвалуїном та його загальним ефектом не з'ясований.

Малярія стала провідною причиною захворюваності та смертності, головним чином через її поширеність у країнах з бідними ресурсами; де терапія недоступна через відсутність пероральних препаратів. Оскільки антималярійна резистентність до наркотиків підриває ефективне лікування захворювання; існує гостра потреба у ефективних, безпечних та доступних засобах лікування. Фітотерапія займає ключову роль у лікуванні інфекційних захворювань з моменту появи людства. За оцінками,

близько 40% усіх лікарських засобів є природними продуктами або їх напівсинтетичними похідними.

Натуральні продукти можуть запропонувати відносно дешеві альтернативні можливості лікування хворих на малярію через велике різноманіття метаболізму. В даний час використовуювані протималярійні препарати, такі як хінін та артемізинін, були виділені із рослин *Cinchona officinalis* та *Artemisia annua* відповідно. Отже, встановлено, що рослини мають потенціал як джерело антималярійних препаратів. Різноманітний клімат Індії процвітає у величезному розмаїтті лікарських рослин і використання рослин для лікування недуг простежується в Індії з давніх часів.

**Мета роботи.** Проаналізувати як вміст та якість алоїну – біологічно активної сполуки алое залежать від місця його зростання

**Завдання.** Для досягнення поставленої в роботі мети необхідно вирішити наступні завдання:

- Охарактеризувати рослину алое, дослідити умови вирощування, розмноження, заготовлення серовини, способи зберігання;
- Визначити хімічний склад даної рослини;
- Охарактеризувати структуру алоїну і його унікальні властивості.
- Обґрунтувати як ті чи інші кліматичні зони впливають на кількість алоїну в рослині;
- Визначити біологічну активність алоїну.

**Об'єкт дослідження** – залежність вирощування алое від агрокліматичних впливів.

**Предмет дослідження** – алое, алоїн.

**Методи дослідження** – аналіз літературних даних, біохімічні, мікробіологічні.

# РОЗДІЛ 1

## ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1 Опис та характеристика алое

Алое вера - соковита рослина з густими м'ясистими, зубчастими, ланцетоподібним листям зеленувато-сіруватого кольору. Внутрішній гель алое вера отримують з нижніх листків рослини шляхом розрізання листя .

Алое вера також відомий як Курачао Алое, використовується в традиційних та народних лікарських засобах протягом тисячі років для лікування різних захворювань. Хоча рослина є рідною для північних частин Африки, вона швидко поширилася по всьому світу, оскільки її легко вирощувати.

Слід зробити важливе розмежування між сильно проносним і чистим латексом, отриманим із клітин пучка-оболонки, та прозорим слизовим гелем. Рослину використовували єгиптяни, асирійці та середземноморські цивілізації, а також у біблійні часи. Різноманітність видів алое досі використовується в народних ліках Африки та Азії. В Конго, як повідомляється, втирають в тіло прозорий слизистий гель, щоб зменшити потовиділення; деякі африканські племена застосовують гель при хронічному кон'юнктивіті. [1]



Рис. 1.1 Алое вера

Гель алое вера використовується як етномедицина в Тринідаді та Тобаго при гіпертонії. Найбільш поширене народне використання алое було для лікування опіків, а саме для допомоги у процесі загоєння, зменшення запалення та відлякування тканин. Гель застосовувався для лікування ран та інфекцій рота, заспокоєння свербіжжю та лікування виразки. Використання алое вера в якості побутового засобу в Сполучених Штатах було викликано повідомленнями про його сприятливий вплив на радіаційний дерматит, за яким відбувся бурхливий ріст. У 1930-х роках; вона залишається поширеною рослиною і для опіків і потертостей. Важливі сучасні способи використання гелю існують у традиційних лікарських засобах Індії, Китаю та Мексики, а також Середньої Америки та Вест-Індії. Мексика виробляє приблизно 47% алое в усьому світі, загальний обсяг продажу 123,5 млн. Доларів США станом на 2008 рік. [2-6]

Незважаючи на широку популярність, наукові дані про гель алое вера залишаються рідкісними. Він вважається безпечним, якщо застосовувати його місцево, повідомляється лише про кілька алергічних реакцій. Ефективність гелю алое вера для лікування опікових ран, генітального герпесу та себорейного дерматиту була показана в клінічних випробуваннях, проте інші показання, такі як псоріаз або

внутрішнє застосування для лікування діабету 2 типу, залишаються непереконливими. Основне застосування гелю залишається як зволожуючий засіб для шкіри в косметичі і для сонячних опіків, де він довів свою ефективність. [7-9]

Гель прозорий, без запаху та без смаку, він повинен бути без шкірки листя або жовтих частин. Не було встановлено послідовної стандартизації, але Міжнародна рада з питань алое (IASC), торгове об'єднання виробників та маркетологів алое, що базується на міжнародному рівні, вимагає дотримання певних специфікацій для сертифікації товару. Інші препарати включають гідрофільний крем, що містить 0,5% гелю алое вера, і емульсію, що складається з 30% гелю алое. [10]

### **1.1.1 Хімічний склад**

Свіжий гель складається переважно з води (99,1%) і клітин мезофілу (0,9% сухої речовини), які можна розділити на 3 окремі фракції: клітинну стінку, мікрочастинки та рідкий гель [припадає 16,2%, 0,7% та 83,1% сухої м'якоти відповідно]. Переважним цукровим компонентом є манноза як манноза-6-фосфат 36 у всіх 3 фракціях [20,4% у клітинній стінці, 32,2% у мікрочастинках і 62,9% у рідкому гелі (% від загального вмісту цукрів)], а потім інші цукри у різних концентрації залежно від фракції. Загалом на 5 нейтральних цукрів (тобто арабінозу, ксилозу, маннозу, галактозу, глюкозу) припадає 69,2% загального вмісту цукрів у гелі. Мукополісахариди в основному присутні у вигляді ацеманнану [високоацетильованого  $\beta$ -1-4-зв'язаного полісахариду, виготовленого переважно з маннози] з різними схемами глікозилювання бічного ланцюга. Вміст антрахінону повинен бути нижче 50 проміле і вважається домішкою з екстракту листя алое. Інші компоненти включають різні амінокислоти, ферменти та вітаміни, які не були кількісно визначені. IASC підтримує програму сертифікації, згідно з якою "цілий гель листя алое вера" повинен дотримуватися таких специфікацій: твердих речовин (0,46% - 1,31%); рН (3,5–4,7); кальцій (98,2–448 мг / л); магній (23,4–118 мг / л; яблучна

кислота (817,8–3,427,8 мг / л); ацеманнан в сировині ( $\geq 5\%$  від сухої маси); ізоцитрат ( $\leq 5\%$  для внутрішнього листа по сухому вазі); зольність сировини ( $\leq 40\%$ ); алоїн ( $\leq 10$  проміле в 0,5% розчині твердих речовин алое вера для перорального вживання). Якісні продукти повинні містити велику кількість (95%) чистого гелю алое вера. Одним із способів кількісного визначення полісахаридів алое є колориметричний аналіз, який був запропонований для використання в контролі якості товарної продукції. [11-14]

### **1.1.2 Побічні ефекти**

Взагалі, місцеве застосування препаратів алое було визнано безпечним, як оцінено експертною групою з огляду косметичних інгредієнтів. Тим не менше, кілька випадків розвитку реакцій гіперчутливості та контактний дерматит у відповідь на місцеве застосування гелю алое препаратів були опубліковані. Цю алергічну реакцію в більшості випадків пов'язують із забрудненням антрахінону гелем. Макрофагальна інфільтрація та блювота спостерігалися у собак, які внутрішньовенно вводили ацеманнан. Пероральне застосування гелю алое вера може знизити рівень глюкози в крові та посилити активність антидіабетичних методів лікування. Не спостерігалось генотоксичних ефектів після перорального введення гелю внутрішнього листка алое вера (який є стандартизованим внутрішнім гелевим екстрактом і не нагрівався після вилучення з листа) щурам через 90 днів. Важливим фактором несприятливих ефектів є чистота використовуваного гелю алое вера, оскільки антрахінони, такі як алоїн, можуть бути пов'язані з розвитком реакцій гіперчутливості. [15-21]

**Взаємодія з наркотиками** коли гель алое вера вводиться місцево, він, як правило, вважається безпечним. Гель алое може підвищити здатність гідрокортизону зменшити набряк при місцевому застосуванні. Якщо приймати всередину, це може призвести до посилення гіпоглікемії разом з пероральними антидіабетиками або інсуліном. Американська фармацевтична асоціація оцінює гель алое вера для зовнішнього застосування категорії 2, тобто «згідно з низкою добре розроблених досліджень та загального застосування, ця речовина виявляється відносно ефективною та безпечною при застосуванні у рекомендованих кількостях». Алое внутрішній гель може значно підвищити всмоктування вітамінів С та Е після перорального застосування. Гель алое вера для системного застосування не рекомендується в поєднанні з антидіабетичними, сечогінними або проносними препаратами севофлуран або дигоксин. Загалом рекомендується 2-годинний проміжок часу між прийомом пероральних препаратів та прийомом алое вера через посилення перистальтики кишечника та зменшення всмоктування ліків. Якщо гель алое вера застосовується з будь-яким іншим препаратом, що відпускається за рецептом, пацієнт повинен повідомити про це лікаря або фармацевта. [22, 23]

## 1.2 Алоїн

Систематичне (ІЮПАК) найменування: алоин А: (10S) -10-глюкопіраноз-1,8-дигідрокси-3- (гідроксиметил) -9 (10H) –антраценон.

Застосування: пероральне.

Формула:  $C_{21}H_{22}O_9$ .

Мовляв. маса: 418,39.

Точка плавлення: 148 ° C (298 ° F) (70-80 ° C для моногідрату).

Алоїн також відомий як барбалоїн - це гірка речовина жовто-коричневого кольору, що міститься в ексудаті щонайменше 68 видів алое в кількості від 0.1 до 6.6% від сухої ваги листа (складаючи, таким чином, 3-35% ексудату), і в середніх

кількостях - в інших 17 видах. Речовина використовується як проносний засіб для лікування кишкових розладів і діє, стимулюючи рух кишечника. З'єднання міститься в соку алое і виділяється з клітин, суміжних з судинними вузлами, і зберігається під шкіркою листа і між шкіркою і гелем. Алоїн це С-глюкозид антрону алое емодин, має різноманітну фармакологічну активність, таку як сильну інгібуючу дію на вивільнення гістаміну, протизапальну, катартичну, противірусну, протимікробну, протиракову, антиоксидантну активність та альтернативу фармацевтичним або косметичним застосуванням. Пік кількості алоїну був досягнутий приблизно через 3 години після перорального прийому. Показано, що концентрація барвалоїну в листках алое вера залежить від частини листя, віку та положення листка. Молоде листя містить більше алоїну порівняно зі старим. Було проведено різноманітні дослідження, але все ще взаємозв'язок між барвалуїном та його загальним ефектом не з'ясований. Для фармацевтичних цілей потрібно розробити більш конкретне уявлення про фармакологічну діяльність алоїну. Було зроблено багато спроб щодо його ізоляції, біологічної активності для вивчення їх впливу та уточнення їх функціонального механізму. Цей огляд дає коротке уявлення про його використання, етномедицинські та комерційно важливі аналітичні методи та їх фармакологічну діяльність. У сухому вигляді речовина використовується при виготовленні алкогольних напоїв для створення гіркового присмаку.

У США речовина вважається натуральним і безпечним для вживання в їжу при використанні в "мінімальних кількостях до досягнення необхідного результату». Використання речовини в кулінарії обмежується виготовленням алкогольних напоїв. У травні 2002 року FDA США випустило заяву, згідно з яким проносні на основі алое були визнані небезпечними і неефективними засобами. В даний час в США алоїнсодержащі продукти доступні тільки за рецептом в зв'язку з ризиком канцерогенності і відсутністю наукових даних по їх безпеці. Сік листа алое вера є концентратом трав і інших рослинних продуктів, і підходить під визначення в якості дієтичної добавки



### 1.2.1 Структура алоїна та його екстракція

Алоїн екстрагують з натуральних джерел у вигляді суміші з двох діастереомерів під назвами алоїн А (барбалоїн) і алоїн В (ізобарбалоїн) зі схожими хімічними характеристиками. Алоїн є антраквіноліновим глюкозиди, тобто з додаванням молекули цукру в його антраквіноліновий скелет.

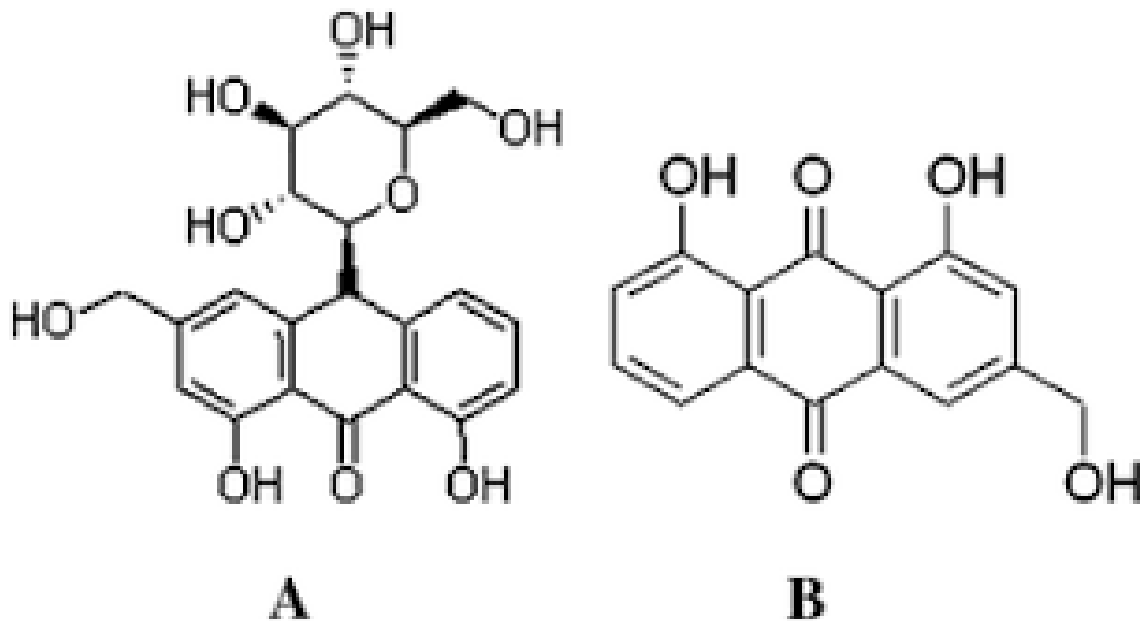


Рис. 1.2 Хімічна структура А та В алоїну

Антраквінони - це сімейство натуральних жовтих, оранжевих і червоних пігментів, багато з яких, як і алоїн, мають проносні властивості. Алоїн вважається найбільш специфічним вторинним фітоконституентом у складі алое, широко поширеним у всьому світі. Однією з головних характеристик алоїну є надання жовтої флуоресценції. Було встановлено, що алоїн надає сильну гальмівну дію на вивільнення гістаміну з тучних клітин. Інгібіторний ефект набагато вищий, ніж у потужного протизапального препарату Індометацин. Отримані результати вказують на те, що у барвалоїна є різні активні ділянки на тучних клітинах.

Вміст алоїну в різних видах алое більший у молодих листках, ніж у старих листках алое, тоді як кінцева третина листя має найвищі відсотки даної речовини. Алоїн - це С-глюкозид антрону алое емодин, який міститься у зовнішній шкірі рослини алое. Повідомлялося, що до 30% сухих ексудатів листків алое рослини і відіграють важливу роль у захисних механізмах проти травоядних тварин. При пероральному застосуванні алоїн погано всмоктується, але метаболізується мікрофлорою кишечника до алое-емодину, який легко абсорбується. Алоїн і алое емодин широко застосовуються за його катартичні властивості та як засіб для вживання в алкогольних напоях. Барбалоїн демонструє протизапальну та катартичну ефекти *in vivo*. Дослідження *in vitro* припускають, що він має переважну токсичність для клітин карциноми і є потужним інгібітором клітин. Речовина була одним з ефективних компонентів та мала чудовий проносний ефект який спостерігався у щурів. Були розроблені та затверджені деякі методи для визначення алоїну, такі як колориметрія, флюорометрія та ВТХ.

Алоїн пов'язаний з алое емодином, речовиною, яка не має цукрової групи, однак характеризується загальними з алоїном біологічними властивостями. Алоїн зазвичай отримують шляхом екстракції з соку алое (термін «алое колюче» також відноситься до висушеному соку листя різних видів алое, особливо *A. ferox*), гіркомого жовтого ексудату, який виділяється з-під шкірки листя алое. Потім сік висушують і роблять з нього порошок, з якого виготовляють таблетки або напої, незважаючи на те, що алоїн не проявляє стабільності в водних розчинах. Продукти, які добувають із гелю рослини алое, не містять істотних кількостей алоїну, і не вважаються ефективними лікарськими засобами при пероральному прийомі [27].

### **1.2.2 Ефекти при вживанні алоїну**

Алоїн збільшує перистальтичні скорочення кишечника, сприяючи поліпшенню травлення. Ця речовина також перешкоджає повторному поглинанню води

кишечником, що приводить до пом'якшення стільця. Це пов'язано з тим, що алоїн відкриває хлоридні канали кишкової мембрани. При прийомі у високих дозах, ці ефекти можуть призвести до електролітного дисбалансу, діареї та болей в шлунку. Вагітним жінкам не рекомендують приймати алоїн в кількостях, що перевищують мінімальні, тому що речовина може викликати маткові скорочення. В одному дослідженні впливу алое на щурів (без відділення гелю від алоїну), спостерігалися значні негативні впливи на здоров'я, в тому числі розвиток нормоцитарної, нормохромної анемії, гіпопротеїнемії і високі рівні аспаратамінотрансферази. І, оскільки в багатьох дослідженнях гелю алое (без алоїну) таких побічних ефектів не спостерігалось, досить імовірно, що в значній мірі ці ефекти можуть бути опосередковані саме алоїні.

### **1.2.3 Безпечність та легальність алоїну**

Ще з часів античності людина використовувала рослинні лікарські засоби, що містять алоїн і інші антраквінони, проте серйозні побічні ефекти значно обмежують можливості застосування алоїну на щоденній основі. У 2002 році FDA США зобов'язало виробників змінити склад або зовсім припинити постачати на ринок безрецептурні продукти, що містять алое, через відсутність необхідних даних по їх безпеці. Речовина все ще є в складі дієтичних добавок і іноді використовується в кулінарії (в основному для виготовлення алкогольних напоїв).

#### **Побічні дії:**

- Надмірна стимуляція кишечника;
- дегідратація;
- Важка діарея;
- Черевні судоми;
- Швидка втрата ваги;
- Дисбаланс електроліту.

Як уникнути алоїну при вживанні, чи можна назвати Алое Вера суперпродуктом, якщо відомо, що він заподіює такої шкоди кишковому тракту? Це може звучати як спрощення, але відповідь полягає в розумінні того, яка частина рослини безпечна для споживання, а яка - ні, - то, що містить алоїн, а що ні. Гель алое вера, знайдений в центрі листа, є багатую поживними речовинами частиною рослини. Латексне покриття, виявлене на внутрішній частині шкірки листа, відсутня. Це латексне покриття є частиною рослини, що містить алоїн. Латекс - це жовтуватий сік або сік в шарі під зовнішньої шкірою, тобто внутрішня кірка листа рослини.

#### **1.2.4 Фармакологічна активність**

Вивчено взаємодію з модельними мембранами алоїну, щоб пояснити їх вплив на біологічні мембрани. Барбалойн виявляв спорідненість до фосфоліпідних мембран та стабілізував пластинчасті структури. Також він виявляв антивірусну активність і може бути використаний як потенційний кандидат альтернативи антимікробним, фармацевтичним або косметичним засобам. Алоїн - головна лікарська складова *алоє*, яка має протизапальну дію.

#### **1.2.5 Антимікробна активність**

Для дослідження впливу *Glomus mossae*, *Azotobacter* sp., Фосфату гірських порід та типу ґрунту на ріст алое вера та вміст алоїну було проведено ортогональний експеримент у скляній ємності. Прищеплення як *Glomus mossae*, так і *Azotobacter* sp. показали збільшення вмісту барвалоїну. Таким чином, рекомендується подвійне щеплення алое вера грибами АМ та азотобактером для підвищення вмісту поживних речовин в алое. Досліджували інгібіторну дію екстрактів трав на бактерії, пов'язані з карієсом, та глюкан зубного нальоту *in vitro*, і було встановлено, що алоїн має

інгібіторну дію на синтез розчинних глюканів . Було встановлено, що алоїн гальмує ріст трихофітонових ментагрофітів в мінімальних концентраціях.

### **1.2.6 Антиоксидантна та протипухлинна активність**

Було вивчено антиоксидантну дію алоїну і виявлено, що він має сильні антиоксиданти для запобігання гемолізу еритроцитів. Алоїн захищає Ca<sup>2+</sup>-АТФ та білкові сульфгідрильні групи на мембранах еритроцитів проти окислювальної атаки геміном . Виявлено вплив алоїну на оксид азоту (NO), фактор некрозу пухлини - альфа (TNF-альфа) та інтерлейкін (IL-12), встановлено значний інгібіторний потенціал. Діяльність алоїну може бути спричинена пригніченням на попередньо оброблених LPS / IFN-гамма активації гами. Оцінюючи цитотоксичну активність алоїну, був використаний колориметричний аналіз *in vitro*, і алоїн не показав ефекту.

### **1.2.7 Вплив алоїну на біодоступність**

Арістолохова кислота-II (AA-II), кон'югована з бичачим сироватковим альбуміном (BSA), була використана як антиген для імунізації мишей і виявилось, що вона має незначну перехресну реакційну здатність до алоїну. Пікова кількість алоїну була досягнута приблизно через 3 години після перорального введення алоїнозиду В, який метаболізувався до алоїну, ізоалоїну та метаболіту гідроксилу кишковими бактеріями щурів. Катартична активність ізоалоїну у щурів, сприятливих до алоїну, була майже рівною активності алоїну. Перорально введений ізоалоїн розкладається на активний метаболіт алое-емодін-9-антрон. Тому вважається, що механізм, що лежить в основі катартичної дії ізоалоїну, такий самий, як у барвалоїн. Природний глікозид, такий як алоїн, вивчався щодо їх метаболічної дії та дії по відношенню до кишкових бактерій за допомогою щурів, що не містять мікробів та гнотобіотиків. Алоїн як проносний засіб, виявився неефективним у звичайних щурів, але виявив сильну

очисну дію на гнотобіотичних щурів, пов'язаних з кишковою бактерією людини *Eubacterium* sp. штам BAR, який здатний перетворювати барвалоїн в алое-емодиновий антрон.

Алоїн також активується алое-емодиноним антроном та кишковими бактеріями людини. Відмінності тварин у проносній дії алоїну зумовлені видовими відмінностями кишкових бактерій. Барбалоїн, основний проносний компонент алое, розкладається на алое-емодин-9-антрон у товстій кишці щурів. Відомо, що алое-емодин-9-антрон викликає збільшення вмісту води в товстій кишці, що є причиною діареї. З викладених даних, було встановлено, що катартичний ефект алоїну обумовлений збільшенням вмісту води в товстому кишечнику, а не посиленням перистальтики.

### **1.2.8 Вплив сезонних змін на вміст алоїну**

Алоїн, вторинний фенольний метаболіт, поширюється в рослинах як частина його внутрішнього захисного механізму і найбільше його у молодих листках а точніше в кінцевій третині листя, найнижча - в прикореневій третині; вища в кінцевій, адаксіальній межі листа і нижча в базальній. Показано, що розподіл алоїну в листі *Aloe arborescens* залежить від частини листя, віку та положення листя, а також від сезонних впливів. Рослини, які піддаються повторному обрізанню листя, реагують на збільшення вмісту своїх вторинних фенольних метаболітів (ВФЕМ). ВФЕМ знайдені в алое включають алоїн, алоенін та похідні алоерезину. Такі сполуки використовуються для багатьох цілей, включаючи захист шкіри людини від сонячних і вогневих опіків та високої радіації, як продукти фармацевтичної та косметичної промисловості, а також як харчові добавки для лікування виразки шлунку та діабету. В Алое вера було проведено польове дослідження з метою визначення впливу різних рівнів синтетичних добрив на хімічній основі на стадії суцвіття рослини. Отримані

результати свідчать про те, що при застосуванні синтетичних добрив на алоїн значно вплинули. Часто обрізаючи листя, вміст трьох вторинних фенольних метаболітів алоїну, алоерезину та алоеніну у листках може різко збільшитися. Зміни цих фенолів вивчали у водній суспензії порошку ексудату листя та в заготовленому листі після зберігання протягом 1-45 днів при температурі 4 ° С у темряві. Під час зберігання у воді спостерігалася швидка деградація алоеніну, але поступова і повільна деградація барвалоїну та алоерезину. Гідропонічно вирощена алое - рослини обробляли хлором для визначення впливу обробки на ріст та якість врожаю. Маса рослини та пагони: коефіцієнт кореня зменшувався зі збільшенням вмісту хлору. Антрахінон та розчинний білок зростали, тоді як вміст алоїну зменшувався зі збільшенням вмісту хлору. Щомісячні дослідження концентрацій алоїнової активності *Aloe arborescens* Miller вивчалися і співвідносяться з температурою та опадами. Загальна концентрація або активність компонентів були високими в теплу пору року і низькими в холодну пору року, а білок, сахарид, поліаміни та карбоксипептидаза сильно впливали на опадів путресцину, що відбувся в низьких концентраціях в серпні.

### **1.2.9 Аналітичні методи барбалуїну**

Визначають алоїн у функціональних харчових продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії. Використовували колонку Kinetex C18 та УФ-детектор, тоді як метанол-0,15% льодовиковий оцтовий використовували як рухливу фазу зі швидкістю потоку 0,60 мл / хв. Цей метод виявився простим, швидким, точним та чутливим, який можна використовувати для визначення алоїну у функціональній їжі. Для відокремлення методів екстракції надкритичної рідини алоїну (НРБ) та подальшого аналізу за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Вплив теплової обробки на вміст алоїну було досліджено та встановлено, що нагрівання сприяло значному зниженню вмісту барвалоїну залежно від температури та часу в гелевому соку від *Алое вера*. Алоїн був також нестабільний

при його розчиненні в метанолі. Вивчено взаємодію гасіння флуоресценції алоїну з альбуміном великої рогатої худоби в рН 7,20 буферним розчином Tris-HCl. Механізм Стерн-Вольмера (SV) був використаний для інтерпретації механізму гасіння барбаломом. Константа зв'язування  $K$  та кількість місць зв'язування були взяті як параметр у цьому дослідженні. Крім того, також виконувались термодинамічні функції ентальпії та ентропії реакції. Запатентована гіпер-суха система в поєднанні ліофільної техніки з мікрохвильовим і далеким інфрачервоним випромінюванням була використана для отримання високомолекулярних фракцій алое вера, які містять алоїн як фітоконституенти. Для кількісного аналізу алоїну в *Aloe ferox* Miller та пов'язаних з алое продуктів був розроблений зворотно-фазний метод з використанням колонки C18 з градієнтом вода-метанол та УФ-детектуванням при 297 нм. Оцінка алоїну у шести видів роду *Rumex* L.: *Rumex acetosa* L., *Rumex acetosella* L., *Rumex confertus* Willd., *Rumex crispus* L., *Rumex hydrolapathum* Huds. та *Rumex obtusifolius* L. була розроблена з використанням рідинної високоефективної рідинної хроматографії. Для визначення низьких рівнів алоїну в продуктах на основі алое були розроблені хроматографія / мас-спектрометрія з діодним масивом в УФ-діапазоні. Описаний швидкий та чутливий флюорометричний метод визначення алоїну в камеді алое вера на основі комплексоутворення європію з алоїном у міцелярному розчині (цетиловий триметиламмоній бромід). Комплекс виявляє дуже інтенсивну люмінесценцію іона європію з максимумом при 613 нм при збудженні при 416 нм.

Алое вера, широко відома як гірке алое, є поліморфним видом і зустрічається у всьому світі. Рослина має дуже вражаючий лікарський профіль, який застосовується з давніх часів як загальне хіміопрофілактичне, протипухлинне та проносний засіб. Він відіграє важливу роль у складі косметичних препаратів та харчових добавок і має антиоксидантну, антимікробну, протизапальну, протиракову та протималярійну дію. Алое містить алоїн разом з деякими іншими фітоконституентами, головним чином відповідальними за його фармакологічну активність. Повідомлялося, що алоїн відіграє важливу роль у захисних механізмах рослин. Його також використовують у



спиртних напоях завдяки своєму гіркому привкусу. Була розроблена ефективна методика розмноження для отримання більш високого вмісту алоїну в техніці культури тканин.

### **1.3 Алое як альтернатива в лікуванні малярії**

Протягом історії людства малярія була однією з головних причин захворювань і смерті людини. Щороку трапляється понад 800 000 смертей; переважна більшість - діти віком до п'яти років. Таким чином, ця високоінфекційна хвороба має глобальний вплив. Малярія - це паразитарне захворювання, поширене в тропічних і субтропічних регіонах світу. Вона особливо ендемічна в регіонах Африки, Азії та Південної Америки. Велика географія та різноманітний клімат Індії підтримують ідеальне середовище для утримання малярійних паразитів та їх векторів. Малярію можна легко діагностувати за морфологічною ознакою на різних стадіях хвороби в крові людини; за винятком *P. falciparum*. *P. falciparum* - це найважчий штам малярії через найвищу смертність людини та стійкість до стандартних протималярійних препаратів. ВОЗ рекомендує комбіновану терапію на основі артемізиніну (АКТ) в якості першої лінії лікування багаторезистентної малярії, спричиненої *P. falciparum* в різних частинах світу. Недавні дослідження показали, що *P. falciparum* розвинув стійкість до багатьох доступних протималярійних препаратів.

Малярія стала провідною причиною захворюваності та смертності, головним чином через її поширеність у країнах з бідними ресурсами; де терапія недоступна через відсутність пероральних препаратів. Оскільки антималярійна резистентність до наркотиків підриває ефективне лікування захворювання; існує гостра потреба у ефективних, безпечних та доступних засобах лікування. Фітотерапія займає ключову роль у лікуванні інфекційних захворювань з моменту появи людства. За оцінками, близько 40% усіх лікарських засобів є природними продуктами або їх напівсинтетичними похідними.

Натуральні продукти можуть запропонувати відносно дешеві альтернативні можливості лікування хворих на малярію через велике різноманіття метаболізму. В даний час використовуювані протималярійні препарати, такі як хінін та артемізинін, були виділені із рослин *Cinchona officinalis* та *Artemisia annua* відповідно. Отже, встановлено, що рослини мають потенціал як джерело антималярійних препаратів. Різноманітний клімат Індії процвітає у величезному розмаїтті лікарських рослин і використання рослин для лікування недуг простежується в Індії з давніх часів.

Оцінка якості та фармакологічна стандартизація рослинних препаратів є головною вимогою промисловості для комерційного виробництва. Відповідно до вказівок ВООЗ, продукт рослинного походження потребує стандартизації щодо безпеки перед випуском його на ринок. ВТХ (високоєфективна тонкошарова хроматографія) - це недорогий метод розділення, якісної ідентифікації або напівкількісного аналізу зразків, який може бути використаний для вирішення багатьох якісних та кількісних аналітичних завдань у широкому діапазоні сфер; включаючи медицину, фармацевтику, хімію, біохімію, аналіз харчових продуктів, токсикологічний та екологічний аналіз.

Алое вера (*Aloe barbadensis* Miller) - це найбільш комерціалізований вид алое, що належить до родини *Xanthorrhoeaceae*, є багато природних лікарських трав, але алое вера володіє величезним спектром цілющих переваг. Завдяки багатофункціональній корисності, ця вічно зелена рослина була впроваджена у вирощування як домашня рослина. Вона використовується з давніх віків як народна медицина бо це багате джерело - з понад 200 поживних речовин, що містяться в природі, які містять водорозчинні та жиророзчинні вітаміни, мінерали, ферменти, полісахариди, фенольні сполуки та органічні кислоти. Її вторинні метаболіти мають численні властивості, такі як протизапальні, антибактеріальні, антиоксидантні, імунозміцнюючі, протиракові, антигенезуючі, полегшення сонячних опіків та антидіабетичні потенціали.

Нещодавно встановлено, що алое вера застосовується проти малярійних захворювань з найбільшою частотою в документаційному звіті про лікарські рослини, які використовуються місцевими громадами західної Уганди. Було проаналізовано основні складові 34 видів алое на антиплазмодіальну активність, використовуючи титруваний аналіз на інкорпорацію гіпоксантину і з'ясувалось що екстракти з алое мали антиплазмодіальну активність щодо штаму плазмодію *falciparum* при концентрації від 32 до 77 мкг на 1 мл, де 50% росту вірусу гальмувалося. Види алое: *A. secundiflora* та *A. lateritia* також використовували для лікування малярії та супутніх хвороб.

Географічні умови - основні фактори, які в кінцевому рахунку впливають на фітоконституенти та лікарські властивості рослини. Індія має шість основних кліматичних зон: високогірний, напівсухий, посушливий, тропічно-вологий, тропічний-сухий, а також вологий субтропічний клімат. Алое вера росте по всій Індії, дико в штатах Махараштра і Таміл Наду і як вирощування в Андхра-Прадеш, Гуджарат і Раджастан. Отже, враховуючи важливість цієї рослини в цій роботі то оцінювали наступне: антиплазмодіальну активність та фітохімічну стандартизацію водних екстрактів алое вера за допомогою ВТХ; зібрані з різних кліматичних регіонах Індії для розробки впливу кліматичних умов на фітохімічне різноманіття та активність зразків.

#### **1.4 Висновки до розділу**

Таким чином можна сказати, що рід алое є один із нарізновидніших, з давних часів люди навчилися використовувати його в лікувальних цілях (для шлункових розладів) а згодом і в косметології. Також алое є одною з найбільш популярних домашніх рослин через свою практичність та різновидність. Також, у цьому огляді описана важлива особливість алоїну щодо його використання, фармакологічної

активності та аналітичних методів, які можуть допомогти дослідникам у майбутньому розробити новий терапевтичний спосіб лікування різних ускладнень.

## **РОЗДІЛ 2**

### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

#### **2.1 Методи**

Для аналізу кількості алоїну та алое-емодин була використана система ВТХ, оснащена аплікатором для зразків Linomat V із шприцом для зразка САМАG, камерою для розробки подвійної шорсткої пластини (20 x 10 см), сканером ВТХ 3 та програмним забезпеченням для інтеграції WINCATS 1.4.8. Лікувальну активність проти малярії рослинних екстрактів оцінювали щодо чутливого до хлорохіну (CQ) штаму *P. falciparum*. Мінімальна інгібіторна концентрація (МІК) водних екстрактів відібраних проб була визначена відповідно до рекомендації Світової організацією охорони здоров'я (ВООЗ). Метод ґрунтувався на оцінці гальмування дозрівання шизонту в 96-лунковому мікротитрованому планшеті. Значення ЕК (ефективної концентрації) різних зразків для прогнозування антиплазмодіального потенціалу рослини з точки зору їх кліматичних зон.

#### **2.2 Збір рослин**

Зразки були зібрані з 12 різних ділянок з півночі на південь Індії, що охоплюють 6 агрокліматичних зон Індії. Кожна зона мала 2 ділянки (рис.4). Географічне розташування місць збирання разом із їх середньою температурою та кількістю опадів зображено в Таблиця1. Зразки були зібрані у січні та лютому 2013 року. Здорові листя алое вера збирали з окремих дикорослих рослин у кожному місці. Рослинний матеріал був ідентифікований та підтверджений автентичністю шляхом порівняння зразка, наявного в департаменті генетики, Університет М. Д., Рохтак (Індія). Тканини поміщали в стерильні пластикові пакети. Всі зразки були доставлені в лабораторію в крижаній коробці і далі оброблені.

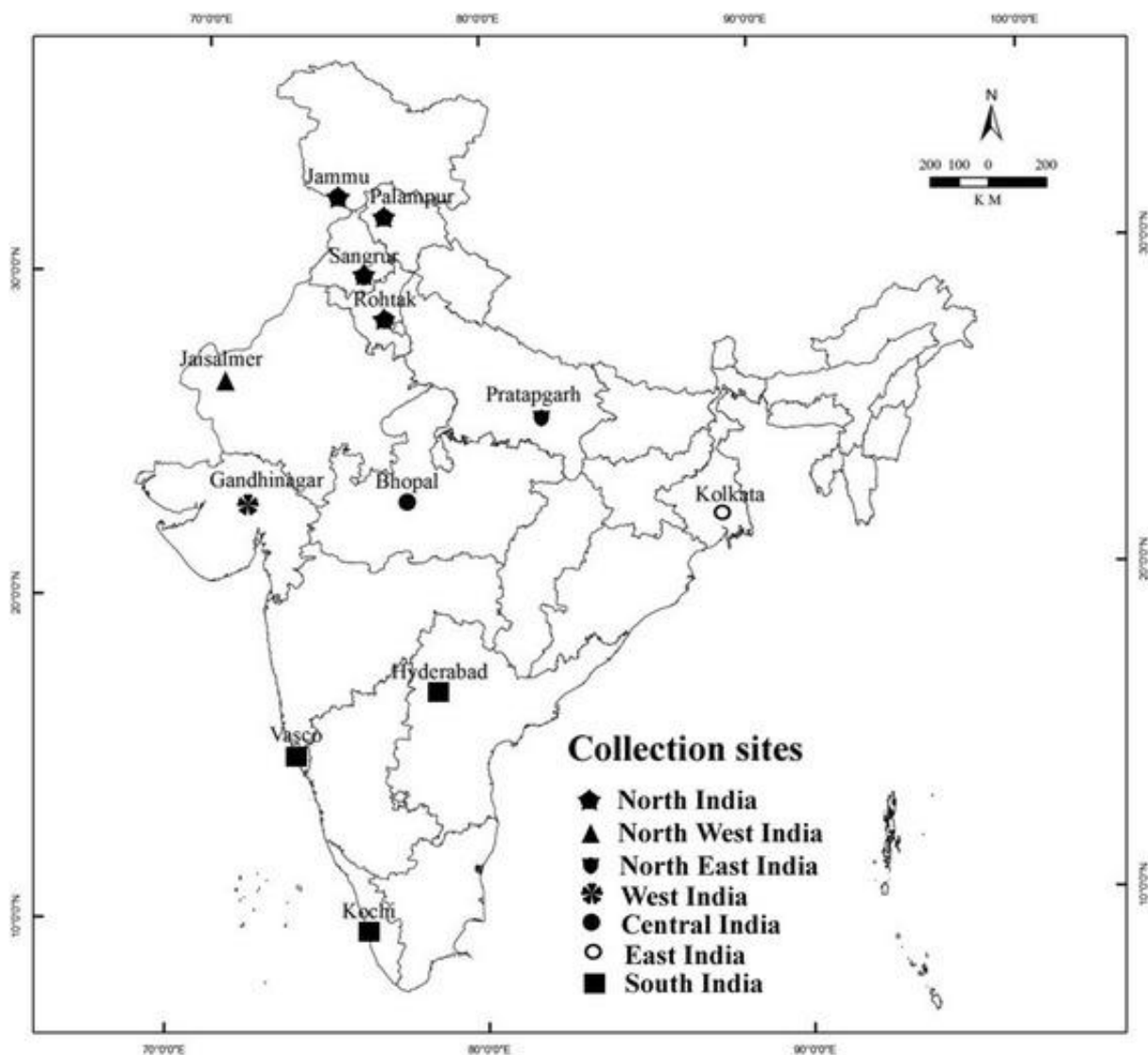


Рис. 2.1 Місця де були зібрані зразки Алое вера в Індії

## **2.3 Високоєфективна тонкошарова хроматографія**

У цьому методі хроматографування речовин відбувається в тонкому шарі сорбенту, нанесеного на тверду плоску підкладку. Поділ в цьому методі в основному відбувається на основі сорбції-десорбції. Використання різних сорбентів, дозволило значно розширити та покращити цей метод.

На початку появи методу пластини доводилося виготовляти самостійно. Але на сьогоднішній день в основному використовуються пластини заводського виготовлення, які мають досить широкий асортимент як за розмірами і носіїв, так і по підкладок.

Сучасна хроматографічна пластинка являє собою основу з скла, алюмінію або полімеру (наприклад політерефталат). У зв'язку з тим, що скляна основа стає менш популярною (часто б'ється, не можна розділити платівку на кілька частин не пошкодивши шар сорбенту, важка по вазі), найбільшого поширення набули пластини, як основ яких використовують алюмінієву фольгу або полімери.

Для закріплення сорбенту застосовують гіпс, крохмаль, сіліказоль та інші, які утримують зерна сорбенту на підкладці. Товщина шару може бути різною (100 і більше мкм), але найважливіший критерій - шар повинен бути рівномірний по товщині в будь-якому місці хроматографічної пластинки. [24]

### **2.3.1 Сорбенти**

Найбільш поширеним сорбентом є силікагель.

Силікагель - гідратований кремнієва кислота, що утворюється при дії мінеральних кислот на силікат натрію і сушкою утворився золю. Після розмелювання золю використовують фракцію певної зернистості (зазначену на платівці, зазвичай 5-20 мкм).

Силікагель є полярним сорбентом, у якого в якості активних центрів служить групи-ОН. Він легко сорбує на поверхні воду і утворює водневі зв'язки.

Окис алюмінію. Окис алюмінію є слабо основним адсорбентом і використовується в основному для розділення сполук слабоосновними і нейтрального характеру. Недоліком пластин на окису алюмінію є обов'язкова активація поверхні перед використанням в сушильній шафі при високій температурі (100-150 °C) і низька, порівняно з силікагелем адсорбційна ємність шару.

Кизельгур - адсорбент, отриманий з природних мінералів: діатомових земель. Сорбент має гідрофільні властивості, але більш низькою адсорбційною ємністю шару в порівнянні з силікагелем. Кремнекислий магній менш полярний ніж силікагель і звичайно використовується у випадках, коли більш полярні адсорбенти не дали ефективного поділу.

Целюлоза - тонкошарові пластини з нанесеною целюлозою дуже ефективні для розділення складних органічних молекул. Адсорбент являє собою в основному кульки целюлози діаметром до 50 мкм, закріплені на носії крохмалем. Але, як і в паперовій хроматографії, підйом фронту розчинника відбувається дуже повільно.

У іонообмінних хроматографічних пластинках як адсорбенту використовують іонообмінні смоли, що містять четвертинний амоній або активні сульфогруп, що беруть участь в іонному обміні. Тонкошарова хроматографія з такого типу пластинками, проводиться з рухомими фазами містять сильні кислоти або лугу. Дані пластинки ефективні для поділу високомолекулярних і амфотерних сполук.

Перераховані вище сорбенти є найбільш поширеними, але крім цих існують безліч речовин, що використовуються як сорбенти. Це тальк, сульфат кальцію, крохмаль і т.д..

У той же час навіть вже зазначені сорбенти можуть бути модифіковані для додання їм нових сорбційних властивостей (просочення сорбентів реактивами, наприклад  $\text{AgNO}_3$ , створення пластин з зверненої фазою). Саме таке розмаїття можливих фаз при мінімальних витратах дозволяють використовувати ТШХ для хроматографування величезного числа речовин.[25]

### 2.3.2 Розчинники

У тонкошаровій хроматографії, як рухомої фази використовують або чисті речовини (етилацетат, бензол тощо), або суміші речовин (системи) у певному співвідношенні.

Підбір рухомої фази (системи) проводиться за такими правилами:

- Вибирають таку систему, в якій колективні компоненти мають невелику розчинність (якщо розчинність речовини висока, то речовини будуть переміщатися з фронтом, при низькій розчинності - залишатися на старті). При розподільній хроматографії або при використанні звернених фаз, розчинність речовин повинна бути вище в рухливій фазі, ніж в нерухомою.

- Склад системи повинен бути постійним і легко відтворюваним.

- Розчинник або компоненти системи не повинні бути отруйними або дефіцитними.

- Система повинна повністю поділяти речовини близького будови, причому відмінності в  $R_f$  повинно бути не менше 0,05.

- Система не повинна викликати хімічні зміни поділюваних компонентів.

- У вибраній системі аналізовані речовини повинні мати різні значення  $R_f$  і розподілятися по всій довжині хроматограми. Бажано, щоб значення  $R_f$  лежало в межах 0,05-0,85.



- При виборі системи також необхідно враховувати природу поділюваних речовин. Так, при хроматографування речовин, що мають основні властивості система не повинна мати кислотними властивостями і навпаки.

Ці рекомендації дають попередню оцінку обраної системи. Останнє слово все одно залишається за експериментом. [24-25]

### **2.3.3 Підготовка пластин**

При використанні набутих пластин, для хроматографування їх необхідно попередньо підготувати. Це пов'язано з тим, що адсорбенти пластин при зберіганні сорбують не тільки вологу, але й інші речовини, що містяться в повітрі. При використанні непідготовлених пластин в процесі хроматографування з'являється фронт "бруд", який може заважати визначенню речовин, що мають великі значення  $R_f$ , а деякі речовини, наприклад вода, може змінювати склад рухомої фази, змінюючи тим самим одержувані значення  $R_f$ .

Попередня підготовка пластин полягає в разгонке пластин чистим розчинником на всю висоту пластинки (метанол, бензол, діетиловий ефір), з наступною сушкою пластини в сушильній шафі при температурі 110-120 °C протягом 0,5-1 години. Таким способом можна підготувати відразу кілька пластин і при зберіганні їх в сухому герметичному місці, зберігають свої властивості кілька місяців. [24-25]

### **2.3.4 Техніка нанесення досліджуваних розчинів**

Як виявляється, нанесення досліджуваної речовини не така складна операція, але разом з тим, вона дуже впливає на отримувані результати хроматографування.

Часто, дослідженню підлягають або рідкі аналізовані речовини, або розчини твердих речовин, без будь-якої попередньої пробопідготовки.

Тому необхідно завжди пам'ятати ряд моментів, серйозно впливають на результати поділу.

Найбільш важливим є концентрація наносяться речовин. У ТШХ прийнято наносити концентрації розчинів близько 1%. Але з іншого боку чутливість методу дозволяє визначати речовини з набагато меншими концентраціями.

Якщо в досліджуваній речовині невідома загальна концентрація компонентів, або відома концентрація, але такого типу речовини ще не хроматографіювали, потрібно визначити яку кількість досліджуваного розчину достатньо для якісної хроматографії. Існують кілька прийомів, що дозволяють це визначити.

Для початку потрібно нанести кілька плям хроматографіюємих розчинів, рівні за розміром, але з різною кількістю (наприклад 1, 2, 5 мкл) і після хроматографування вивчити форму та розміри розділених плям.

Так при правильно підібраній концентрації форма розділених речовин така ж, як і форма нанесеною на лінії старту. Якщо розділені плями мають великі розміри, ніж пляма на старті, то нанесена концентрація занадто велика. Поява "хвостів", неправильна форма розділених плям на платівці теж може говорити про високу концентрацію, але може бути викликана неправильно підбраною хроматографічною системою, або хімічною взаємодією компонентів, що розділяються. Підбором кількості нанесеного речовини і системи розчинників можна домогтися повного поділу на одній платівці до десяти компонентів в досліджуваних речовинах. Зручно наносити зразки на спеціальному столику з трафаретами і підігрівом. Нанесення плям проводять на "лінії старту" 1-2 см від нижнього краю пластинки. Це необхідно для того, щоб при опусканні пластинки в систему не відбувалося розчинення в ній зразків, а все нанесене речовина піддалося хроматографування.

Нанесення розчинів проводять або мікро шприца, або відградуєваних капілярами. Розмір спричинених плями не повинен перевищувати 4 мм. Це пов'язано з тим, що при більшому розмірі плями, відбувається зміна форми під дією фізичних сил, та й кордону розділених компонентів можуть перекриватися.

Нанесення на пластини досліджуваних речовин не повинні супроводжуватися руйнуванням сорбенту (що досить сильно впливає на якість розділення), тому крапля повинна наноситися торканням голки або капіляра про шар сорбенту, а не натисканням. На розмір утворюється плями впливає не тільки кількості наносимого розчину, а й від полярності розчинника і його температури кипіння. Так при нанесенні одного і того ж речовини в різних розчинниках, що утворилося пляма в якому в якості розчинника використовувався метанол буде більше, ніж пляма від розчину хлороформу. З іншого боку при підігріві підкладки випаровування розчинників буде інтенсивніше і розмір плями також зменшується.

Звичайно, простіше використовувати при нанесенні для підсушування плям фен, але тільки в тому випадку, коли є повна впевненість, що наносяться речовини не будуть окислюватися під дією гарячого повітря. Відстань між наносяться плямами має бути близько 2 см.

Іноді при хроматографірованія на пластинках спостерігається крайовий ефект, в результаті чого плями розташовуються не на одній лінії а мають вигляд підкови, або по діагоналі. Для усунення цього ефекту кожному пляму можна "забезпечити" своєї доріжкою, відокремивши нанесений зразок від інших шляхом видалення лінії сорбенту. Це найкраще робити під лінійку гострим предметом (типу скальпеля) але обережно, щоб не видалити занадто багато сорбенту.

Після нанесення досліджуваних речовин на платівку, необхідно домогтися повного видалення розчинників, тому що навіть невеликий вміст розчинника в досліджуваній речовині може вплинути на розподіл і навіть змінити склад хроматографічної системи.

Видалення розчинників зазвичай проводять природною сушкою пластин 5-10 хв, або при нагріванні феном або в сушильній шафі.

## **2.4 Висновки до розділу**

В даному розділі були описані методи за допомогою яких визначають кількості алоїну та алое-емодин в рослинах. Проведений повний опис збору рослин різних ділянок з півночі на південь Індії, що охоплюють 6 агрокліматичних зон в даній

№	Агрокліматичні зони	Назва штату	Місце збору	Середня темп.	Середня кількі	Вихід сирого екстрак	Вихід алоїну з сирого екстракту	Вихід екстракту алое-емодин
---	---------------------	-------------	-------------	---------------	----------------	----------------------	---------------------------------	-----------------------------

країні. Також розібраний метод Високоєфективної тонкошарової хроматографії.

### **РОЗДІЛ 3**

#### **ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА**

У цьому дослідженні зразки алое вера були зібрані з різних кліматичних регіонів Індії. Були проведені: кількісний ВТХ (високоєфективна тонкошарова хроматографія), аналіз важливих антрахінонів – алоїну, алое-емодин та антиплазмодіальну активність сирих і водних екстрактів алое. Дослідження проводилось для оцінки впливу цих компонентів на лікувальний потенціал рослини.

							(мг / г)	% вихід	(мг / г)	% вихід
1	високогірна	Джамму та Кашмір	Джамму	13,5	1001	3,7	0,45 ± 0,061	1.21	0,23 ± 0,054	0.62
2		Хімачал-Прадеш	Палампу р	13,5	1251	3,5	0,45 ± 0,043	1.28	0,21 ± 0,008	0.60
3	Напівсуха	Пенджаб	Сангур	25	649	3,9	0,32 ± 0,050	0.82	0,29 ± 0,066	0.74
4		Хар'яна	Рохтак	27	617	4,1	0,39 ± 0,022	0.95	0,11 ± 0,037	0.27
5	суха	Раджастан	Джайсал мер	28,5	209,5	3,5	0,37 ± 0,034	1.06	0,27 ± 0,029	0.77
6		Гуджарат	Гандінагар	27,5	1107	3,8	0,21 ± 0,067	0.55	0,13 ± 0,043	0.34
7	тропічно-волога	Уттар-Прадеш	Прагапгарх	25,5	904	3,9	0,33 ± 0,041	0.85	не вияв.	---
8		Мадх'я-Прадеш	Бхопал	25,5	1146	3,0	0,22 ± 0,074	0.73	0,19 ± 0,060	0.63
9	тропічно-суха	Західний Бенгал	Колката	27	1582	3,4	0,17 ± 0,037	0.50	0,27 ± 0,036	0.79
10		Телангана	Хайдерабад	26,5	812,5	3,7	не вияв.	---	не вияв.	---
11	волога субтропічна	Керала	Кочі	28	3005	3,6	не вияв.	---	0,09 ± 0,042	0.25
12		Гоа	Васко	27,5	3055	3,3	0,15 ± 0,033	0.45	0,20 ± 0,040	0.60

Таблиця 3.1

Географічні параметри, вихід сирого екстракту, алоїну та алое-емодин в водних екстрактах алое вера, зібраних з різних ділянок Індії

### 3.1 Приготування екстракту

Зразки спочатку промивали водопровідною водою, а потім стерилізували поверхню 10% -ним гіпохлоритом натрію, щоб запобігти забрудненню будь-якими мікробами, потім ретельно промили стерильною дистильованою водою. Рослинні зразки просушували в тіні з подачею повітря в духовці (50 ° С) і подрібнили в електричному блендері. Водні екстракти різних приєднань готували методом холодного просочення. Екстракти об'єднували, а розчинник випарювали за допомогою оберненого випарника при зниженому тиску та температурі 40 ° С. Отримані таким чином очищені екстракти зберігали при 4 ° С для проведення аналізів.

### **3.2 Вилучення алоїну**

Способи, які зазвичай використовують протягом ряду років, як правило, включають екстракцію, починаючи з твердої смоли з твердих залишків, які отримують, коли гель концентрують шляхом його простого нагрівання на відкритому повітрі при атмосферному тиску. Екстракція призводить до алоїну, який може бути очищений перекристалізацією з відповідного розчинника.

Звичайне хімічна назва алоїну є 10-глюкопіраноз-1,8-дигідрокси-3-гідроксиметил-9 (10Н) -антраценон. Алоїн існує в формі двох ізомерів, А і В, які розрізняються становищем глюкозної групи на антроновій підставі, їх співвідношення варіюються, в залежності від природи рослин і застосовуваних способів екстракції. Переважніший алоїн з високим вмістом А ізомера.

У колбі для розпарювання ємністю 1 л концентрують 200 г жовтого соку aloe vera при тиску близько  $4 \times 10^3$  Па на водяній бані, нагрітій приблизно до 55° С. Після видалення 75% води концентрат переносять в 600 мл етилацетату при температурі між 55 і 60° С при енергійному перемішуванні протягом 30 хвилин.

Після декантації верхній органічний шар відокремлюють і водний залишок тричі екстрагують етилацетатом при температурі між 50 і 60°С. Екстракти об'єднують

і концентрують у вакуумі, підтримуючи при цьому температуру між 45 і 50°C. Одержуваний при цьому пофарбований в коричнево-оранжевий колір твердий продукт, що має вміст алоїну приблизно 45-50%, знову розчиняють в 640 мл ізобутанолу при 70° (тобто 40 обсягів ізобутанолу по відношенню до присутнього алоїну).

Ізобутанольний розчин охолоджують до 5°C і витримують при цій температурі протягом чотирьох годин.

Викристалізований алоїн збирають на воронці Бюхнера, при цьому осад на фільтрі промивають 20 мл ізобутанолу.

Після висушування отримують продукт у вигляді жовто-коричневого порошку, що має вміст алоїну 86%, що визначено хроматографічно (HPLC, рідинна хроматографія високого тиску).

Вихід чистого алоїну по відношенню до алоїну, що міститься в жовтому соку, який використовується як вихідного продукту, становить 40%.

### **3.3 Високоєфективна тонкошарова хроматографія -аналіз**

Була використана система ВТХ, оснащена аплікатором для зразків Linomat V із шприцом для зразка SAMAG, 100 мкл, камерою для розробки двоярусної пластини (20 × 10 см), сканером ВТХ 3 та програмним забезпеченням інтеграції WINCATS 1.4.8. Візуалізатор SAMAG ВТХ (Професійна система фотодокументації) був використаний для зйомки кольорових зображень розробленої пластини ВТХ та інших цілей документації. В якості адсорбенту використовували алюмінієву пластинку НРВТХ (20 × 10 см), попередньо покриту силікагелем. Нагрівач використовувався для попередньої активації пластин ВТХ та для сушіння розроблених плит. Дослідженими умовами експерименту були температура  $25 \pm 2$  ° С, відносна вологість 40%.

Метод ВТХ використовували для оцінки вмісту алоїну та алое-емодину в різних зразках алое вера, використовуючи стандартний берберин як біомаркер.

Для досягнення кінцевої концентрації 1000 мкг / мл готували водний екстракт алое з різних зразків. 1000 мкг / мл розчину алоїну та алое-емодин еталонного стандарту готували у воді як основний розчин. Етилацетат, метанол і вода у співвідношенні 10: 2: 1.

Пластину ВТХ (10 × 10 см) попередньо активували на нагрівачі при 60 ° С протягом 30 хв. Для кохроматографії з алоїном та емодином 10 мкл розчину зразків водного екстракту разом із еталоном наносили на планшет ВТХ, а пластину розробляли у етилацетаті, метанолі та воді у співвідношенні 10: 2: 1. Пластини сушили при температурі 120 ° С протягом 5 хв,. Потім пластину зберігали всередині візуалізатора ВТХ для вирішення кольорових смуг і для фотодокументації на пластини. Були відзначені значення коефіцієнта затримки (Rf) та колір розділених смуг.

### **3.4 Аналіз денситометрії ВТХ**

Приготування зразка та стандартного розчину

Розчин проби (водний екстракт; 1000 мкг / мл) і стандартний розчин (1000 мкг / мл), описаний у попередньому розділі, використовували для кількісного визначення алоїну та алое-емодин.

Підготовка калібрувальної кривої, кількісного визначення алоїну та алое-емодин.

Різний об'єм стандартного вихідного розчину 2, 4, 6, 8, 10 і 12 мкл був помічений на планшеті ВТХ (20 × 10 см) для забезпечення концентрації 4, 6, 8, 10 і 12 мкг / пляма алоїну алое-емодин відповідно, використовуючи флакон I та флакон II з плямистістю 4 мкл вихідного розчину на 12 зразків. Зразки наносили у вигляді смуг шириною 4 мм, 12 мм один від одного, аплікатором CAMAG Linomat V,



використовуючи шприц для зразка 100 мкл з постійною швидкістю нанесення 150 нЛс -1 . Після нанесення зразків планшети розробляли у розвивальній камері, попередньо насиченій рухливою фазою (20 мл) етилацетатом, метанолом і водою у співвідношенні 10: 2: 1 протягом 20 хв. Пластинка була підготовлена в горизонтальній камері для скручування склоподібною камерою SAMAG (20 × 10 см) при кімнатній температурі до 8 см (80% від загального розміру пластини). Для розвитку тонкошарової хроматографії використовувався висхідний режим.

Після розробки плити сушили на нагрівачі плит SAMAG TLC при температурі 120 ° С протягом 5 хв. Потім пластину утримували в режимі відбиття ультрафіолетового випромінювання та флуоресценції в системі фотодокументації візуалізатора при довжині хвилі 254 та 366 нм відповідно. Кольорові зображення розроблених пластин були задокументовані на обох довжинах хвиль 254 та 366 нм . Потім розроблену пластину сканували на 366 нм за допомогою денситометричного сканера SAMAG TLC 3.

Калібрувальну криву готували, використовуючи стандартний діапазон концентрацій 4-12 мкг / пляма. Кожна площа пікових концентрацій була побудована проти концентрації алоїну та алое-емодин відповідно, виявленої при денситометричному аналізі в рамках інтегрованого програмного забезпечення. Кількісне визначення алоїну та алое-емодин проводили, коли реєстрували площі піків зразків плям, а кількість алоїну та алое-емодин розраховували за допомогою стандартної кривої.

### **3.5 Мінімальна інгібіторна концентрація**

Антиплазмодіальну активність водних екстрактів відібраних зразків проводили в триразовому екземплярі на 96-лунковій мікротитровій пластині за методом ВООЗ, який базувався на оцінці гальмування дозрівання шизонту.

Культуру синхронізували, використовуючи 5% розчин сорбіту протягом 5 хв при кімнатній температурі для забезпечення знищення всіх інших стадій, крім кілець. Його центрифугували протягом 5 хв при 1500 об / хв. Супернатант відкидали, а гранули два рази промивали неповним середовищем. Паразитемію доводять до приблизно 1% розчину для аналізу шляхом розведення свіжовимитими RBC. Екстракти розчиняли в Диметилсульфоксид для отримання концентрацій 125, 62,5, 31,25, 15,6, 7,8, 3,9 та 1,9 мкг / мл. Для лунок з позитивним контролем еритроцити, що паразитують, позбавлені екстрактів, тоді як для лунок з негативним контролем готували лише еритроцити без паразитування, 50 мікролітрів середовища із сумішшю крові додавали до кожної лунки в тарілці та інкубували в контрольованій газовій атмосфері 2% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> та 93% N<sub>2</sub> при 37 ° C протягом 24–36 год в інкубаторі CO<sub>2</sub>.

Після інкубації вміст лунок збирали та фарбували протягом 30 хв у 2% розчині Гімзи (рН 7,2). Також було зафіксовано значення EC<sub>50</sub> для стандартного препарату CQ (хлорохін).

### **3.6 Статистичний аналіз**

Ефективну концентрацію екстрактів визначали за допомогою програмного забезпечення HN-NonLin V1.1. Значення EC<sub>50</sub>, що вказують на концентрацію екстракту, необхідну для отримання 50% гальмування росту паразитів, розраховували за допомогою лінійного регресійного аналізу з трьома повторами. Метод коефіцієнта Пірсона був використаний для виявлення кореляції між кількісними фітохімічними аналізами та антиплазмодіальною активністю кожного екстракту. Кореляція між алоїном, кількістю алое-емодину, значеннями EC<sub>50</sub>, температурою та опадами кожної ділянки збору була розрахована за допомогою програмного забезпечення SPSS версії 16 (комп'ютерна програма для статистичної обробки даних, один з лідерів

ринку в області комерційних статистичних продуктів, призначених для проведення прикладних досліджень в суспільних науках)

### **3.7 Результати**

Максимальну кількість алоїну та алое-емодину, тобто 0,45 та 0,27 мг / г відповідно, спостерігали з 12 зразків алое. Антиплазмодіальне значення контролю Хлорохіну спостерігалось 0,034 мкг / мл, а значення EC50 (напівмаксимальна ефективна концентрація, означає концентрацію ліганда, яка спричинює ефект, що дорівнює половині максимального можливого для даного ліганду після спливання деякого проміжку часу), показані алоїном і алое-емодін - 67 мкг / мл та 22 мкг / мл відповідно. Повідомлялося про позитивну кореляцію між алоїном та алое-емодін. Лікувальну активність збільшелась зі збільшенням концентрації алоїну та алое-емодину. Кількість цих речовин в алое зменшувалась із підвищенням температури.

### **3.8 Висновки до розділу**

Екстракти алое вера, зібрані з холодних кліматичних регіонів, показали хорошу біологічну активність, а також наявність більшої кількості алоїну та алое-емодину порівняно зі зразками які були зібраними з тепліших кліматичних місць. Виявлено значну кореляцію між кількістю антрахінонів, що використовуються як маркерні сполуки, та значеннями EC50 для різних екстрактів алое. Хоча обидва антрахінони виявляли менший лікувальний потенціал порівняно з сирими екстрактами різних зразків алое. Різні кліматичні фактори впливають на кількість випробуваних сполук та лікувальний потенціал рослини в різних зразках алое вера.

## **РОЗДІЛ 4**

### **ОХОРОНА ПРАЦІ**

На людину в процесі її трудової діяльності можуть впливати небезпечні та шкідливі виробничі фактори.

Аналіз шкідливих та небезпечних виробничих факторів проводиться відповідно до чинного законодавства України, а саме санітарних норм та правил охорони праці на робочих місцях працівників.

Ці Державні санітарні норми та правила «Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу» спрямовані на оцінку умов та характеру праці на робочих місцях працівників та застосовуються на підприємствах, в установах, організаціях усіх форм власності у випадках, передбачених законодавством.

Дані нормативи використовують для визначення рівня шкідливих виробничих факторів, який при щоденній (крім вихідних днів) 8-годинній роботі (але не більше 40 годин на тиждень протягом усього робочого стажу) не повинен викликати захворювань або відхилень у стані здоров'я. Дотримання гігієнічних нормативів не виключає порушень стану здоров'я осіб з підвищеною чутливістю (зниженою резистентністю) [26].

#### **4.2. Організація робочого місця**

Умови праці на робочому місці, безпека технологічних процесів, машин, механізмів, устаткування та інших засобів виробництва, стан засобів колективного та індивідуального захисту, що використовуються працівником, а також санітарно-побутові умови повинні відповідати вимогам законодавства.

Роботодавець зобов'язаний створити на робочому місці в кожному структурному підрозділі умови праці відповідно до нормативно-правових актів, а також забезпечити додержання вимог законодавства щодо прав працівників у галузі охорони праці.

Організація робочого місця - це система заходів щодо його оснащення засобами і предметами праці і розміщенню їх у визначеному порядку.

Організація обслуговування робочого місця означає його забезпечення засобами, предметами праці і послугами, необхідними для здійснення трудового процесу. Основна мета організації робочого місця є досягнення високоякісного й економічно ефективного виконання виробничого завдання у встановлений термін на основі повного використання устаткування, робочого часу, застосування передових методів праці з найменшими фізичними зусиллями, створення безпечних і сприятливих умов ведення робіт. Залежно від специфіки виробництва на організацію робочих місць впливають і інші фактори: співвідношення елементів розумової і фізичної роботи, ступінь її відповідальності. При організації робочих місць повинні бути також враховані освітленість, температура, вологість, тиск, шум, вібрація, пиловиділення і інші санітарно-гігієнічні вимоги до організації робочих місць. Необхідними вимогами є:

- характеристика робочого місця;
- загальні вимоги до організації робочого місця;
- оснащення робочого місця;
- просторова організація робочого місця та порядок розміщення організаційної оснастки, інструментів, матеріалів;

- опис організації праці на робочому місці та рекомендовані передові прийоми і методи праці;
- організація обслуговування робочого місця, способи і засоби зв'язку зі службами обслуговування й управління;
- умови праці на робочому місці;
- вимоги безпеки і охорони праці;
- нормування праці, застосовувані форми і системи оплати праці;
- документація на робочому місці.

Проектування та встановлення електрообладнання повинно відповідати вимогам пожежної безпеки, вибухозахисту та захисту осіб від нещасних випадків, спричинених контактом з ними.

Вибір електрообладнання та захисних пристроїв, а також напруга живлення повинен враховувати вплив зовнішніх умов та професійну кваліфікацію персоналу, який матиме доступ до деталей обладнання [27].

#### **4.3 Небезпечні та шкідливі фактори виробництва**

Небезпечний виробничий фактор - фактор середовища і трудового процесу, що може бути причиною гострого захворювання (отруєння), раптового різкого погіршення здоров'я або смерті [26].

Згідно з державною класифікацією до числа небезпечних та шкідливих виробничих факторів, які діють на працівника під час робочого процесу відносяться:

- підвищене значення напруги в електричному ланцюзі, замикання якого може відбутися крізь тіло людини;
- підвищена температура повітря робочої зони;
- підвищена або понижена вологість повітря;
- підвищений рівень електромагнітних випромінювань;

- хімічні речовини (токсичні, подразнюючі), що потрапляють всередину організму людини через органи дихання, шлунково-кишковий тракт, шкіру, слизові оболонки;
- вплив патогенних мікроорганізмів (бактерії, віруси, рикетсії, спірохети, гриби, найпростіші) і продукти їх життєдіяльності.

Шкідливі речовини, що потрапили тим, чи іншим шляхом в організм людини можуть викликати отруєння (гострі чи хронічні). Тому концентрація шкідливих речовин у повітрі робочої зони не повинна перевищувати гранично допустимих концентрацій, що встановлені Міністерством охорони здоров'я України.

#### **4.3.1 Аналіз небезпечних та шкідливих факторів виробництва**

Підвищене значення напруги в електричному ланцюзі, замикання якого може відбутися крізь тіло людини. Джерелом виникнення даного фактору є мережа електричного струму 220 В.

Підвищена температура повітря робочої зони. Якщо в робочому приміщенні знаходиться багато робочого устаткування, в нашому випадку комп'ютерів, приладів, які приймають участь у виконанні та обробці розрахунків, в результаті роботи цього устаткування температура повітря в приміщенні піднімається і це шкідливо впливає на робочий процес і на здоров'я людини.

Підвищена або понижена вологість повітря. Оскільки в лабораторії знаходиться багато тест-об'єктів, які є вимогливими для утримання і потребують спеціальних умов – температуру, підвищену чи понижено вологість повітря. А тривале перебування в даній лабораторії може вплинути на самопочуття лаборанта. Надмірно сухе повітря висушує слизові оболонки (очей, дихальних шляхів, носоглотки) і може привести до пониження імунітету, стомлюваності, погіршення

стану шкіри. Та і просто до дискомфорту. Надмірна ж вологість цілком здатна стати причиною таких захворювань як астма, алергія, риніт.

Підвищений рівень електромагнітних випромінювань. Оскільки в приміщенні знаходиться комп'ютер, джерелом виникнення даного фактору вважається екран дисплея.

Хімічні речовини (токсичні, подразнюючі), що потрапляють всередину організму людини через органи дихання, шлунково-кишковий тракт, шкіру, слизові оболонки. Під час роботи в лабораторії працівники стикаються з різними хімічними речовинами, що мають токсичні властивості. Вони можуть проникати в організм людини через органи дихання, органи травлення, а також шкіру, слизові оболонки та шлунково-кишковий тракт.

В лабораторії наявні такі хімічні речовини:

- кислоти, луги, розчинники, миючі засоби (позрадноють слизові оболонки і діють на шкіряні покрови);
- феноли, бензини, ефіри (діють на ЦНС);
- важкі метали, кислоти, луги, розчинники (вважають органи дихання).

Вплив патогенних мікроорганізмів (бактерії, віруси, рикетсії, спірохети, гриби, найпростіші) і продукти їх життєдіяльності. Причинами виникнення цього фактору є робота в лабораторії, де проводяться різноманітні тести і хімічні дослідження з використанням мікроорганізмів, які здатні впливати на людину. В якості біотестів в лабораторії застосовують різні мікроорганізми: зелені водорості – ряска, ракоподібних – церіодафній і дафній, найпростіших – інфузорій. Внаслідок недотримання правил техніки безпеки та невиконання прийнятих методик можуть виникнути небезпечні ситуації (ураження, отруєння або навіть смерть).

#### **4.4 Заходи щодо зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих факторів виробництва**



При експлуатації електронагрівальних приладів необхідно слідкувати за тим, щоб вони були розміщені як найдалі від легкозаймистих речовин, матеріалів, предметів і конструкцій. Металеві та неметалеві електропровідні конструкції, комунікації та виробниче обладнання повинні бути електростатично заземленими.

Напруженість електростатичного поля на робочих місцях не повинна перевищувати 20 кВ/м.

Вимоги щодо рівня неіонізуючих електромагнітних випромінювань, електростатичних та магнітних полів встановлюються відповідно до ДСанПіН 3.3.2.007-98 [5], а також Вимог до роботодавців щодо захисту працівників від шкідливого впливу електромагнітних полів, затверджених наказом Міненергетики від 05.02.2014 р. № 99, ДСанПіН 3.3.6.096-2002 [31].

Значення напруженості електростатичного поля на робочих місцях (як у зоні екрана дисплея, так і на поверхнях обладнання, клавіатури, друкувального пристрою) мають не перевищувати гранично допустимих відповідно до встановлених норм.

Для запобігання створенню значної напруженості поля та захисту від статичної електрики необхідно:

- встановити нейтралізатори статичної електрики;
- підтримувати в приміщенні з ЕОМ відносну вологість повітря не нижче 45-50% (чим сухіше повітря тим більше електростатичних зарядів), можна для цього використати навіть побутові зволожувачі;
- застелити підлогу в приміщеннях антистатичним лінолеумом і проводити щоденне вологе прибирання;
- протирати екран комп'ютера та робоче місце спеціальною антистатичною серветкою або зволоженою тканиною.

Контроль за нормальними метеорологічними умовами в робочій зоні повинен проводитися відповідно до санітарних норм мікроклімату виробничих приміщень

ДСН 3.3.6.042-99 [32] з використанням термометрів, психометрів та гігрометрів (для вимірювання вологості), анемометрів (для вимірювання швидкості руху повітря).

Заходами, що забезпечують нормальні метеорологічні умови є:

- ізоляція джерел надмірного тепла та їхнє раціональне розташування;
- охолодження теплоізолюючих поверхонь;
- встановлення припливно-витяжної вентиляції, що забезпечує видалення надмірного тепла і вологи з приміщення;
- встановлення апаратів для кондиціонування повітря;
- використання працівниками засобів індивідуального захисту від переохолоджень чи перегрівань.

Джерелом електростатичного поля та електромагнітних випромінювань у широкому діапазоні частот є персональні електронно-обчислювальні машини (ПЕОМ).

При виконанні робіт на комп'ютерах необхідно дотримуватись вимог з охорони праці. Головною небезпекою для користувачів становить випромінювання від монітора комп'ютера. Для захисту від електромагнітних випромінювань при використанні комп'ютерів необхідно встановлювати захисний екран. Робочі місця мають бути розташовані на відстані не менше 1,5 м від стіни з вікнами, від інших стін на відстані 1 м, між собою на відстані не менше 1,5 м. Відносно вікон робоче місце доцільно розташовувати таким чином, щоб природне світло падало на нього збоку, переважно зліва. Робочі місця слід розташовувати так, щоб уникнути попадання в очі прямого світла. Джерела освітлення рекомендується розташовувати з обох боків екрану паралельно напрямку погляду. Для уникнення світлових відблисків екрану, клавіатури в напрямку очей користувача, від світильників загального освітлення або сонячних променів, необхідно використовувати антиполюсові сітки, спеціальні фільтри для екранів, захисні козирки, на вікнах – жалюзі.

При роботі з текстовою інформацією (в режимі введення даних та редагування тексту, читання з екрану) найбільш фізіологічним правильним є зображення чорних знаків на світлому (чорному) фоні.

Монітор повинен бути розташований на робочому місці так, щоб поверхня екрана знаходилася в центрі поля зору на відстані 400-700 мм від очей користувача. Рекомендується розміщувати елементи робочого місця так, щоб витримувалася однакова відстань очей від екрана, клавіатури, тексту.

Для нейтралізації зарядів статичної електрики в приміщенні, де виконується робота на комп'ютерах, в тому числі на лазерних та світлодіодних принтерах, рекомендується збільшувати вологість повітря за допомогою кімнатних зволожувачів.

Внаслідок виробничої діяльності у повітряне середовище приміщень можуть надходити різноманітні шкідливі речовини. Щоб попередити потрапляння шкідливих речовин в організм людини через органи дихання, шлунково-кишковий тракт, шкіру та слизові оболонки необхідно дотримуватись наступних заходів:

- дотримання правил техніки безпеки;
- забезпечення нормального функціонування систем опалення, загальнообмінної вентиляції, кондиціонування повітря;
- контроль за вмістом шкідливих речовин в повітрі робочої зони;
- забезпечення робочих місць необхідною кількістю води та нейтралізуючих речовин;
- забезпечення працівників засобами колективного захисту (огородження, вентиляція, герметизація тощо) і ефективного їх використання;
- використання засобів індивідуального захисту (спецодяг, респіратори і т.д.).

Щоб уникнути несприятливого впливу патогенних мікроорганізмів необхідно:

- щоб кожен працівник був забезпечений робочим одягом (халатами протичумними, халатами медичними, косинками і іншими видами спецодягу і взуття, передбаченими нормами);

- перед використанням посуд, піпетки, обладнання, шприци і т.ін. повинні бути перевірені на цілісність і справність;
- з метою попередження алергічних захворювань, роботу з убитими мікроорганізмами, які висушені будь-якими засобами, проводять у витяжних шафах або настільних боксах з витяжкою з наступною вологою обробкою боксу;
- об'єкти з культурами зберігати в металевих водостійких ємкостях з щільно зачиненими кришками, які розміщують в холодильники або залізні шафи;
- у приміщеннях повинні бути встановлені бактерицидні лампи;
- прибирання приміщень проводять щоденно з використанням миючих та дезинфікуючих засобів.

#### **4.5 Забезпечення пожежної безпеки на виробництві**

Відповідно до положень Пожежної Безпеки в Україні А.01.001-2004, посадовими особами правила є обов'язковими для всіх центральних та місцевих органів виконавчої влади, органів місцевого самоврядування, підприємств, установ, організацій (незалежно від їх діяльності та форми власності) та громадяни [29].

Електробезпека приміщення забезпечується відповідно до правил встановлення електроустановок. Небезпечний і шкідливий вплив на людей електричного струму, електричної дуги та електромагнітних полів проявляється у вигляді електричної травми та професійних захворювань.

Ступінь небезпечного та шкідливого впливу на людину електричного струму, електричної дуги та електромагнітних полів залежить від:

- Виду і значення напруги та струму;
- Частоти електричного струму;
- Тривалість впливу на організм людини.

Основними причинами виникнення пожежі на виробництві можуть бути:

- несправне обладнання;
- неправильне зберігання вогнебезпечних рідин;
- необережне поводження з вогнем, вогнебезпечними рідинами;
- залишення без нагляду електронагрівальних приладів;
- паління у приміщенні;
- поширення вогню з сусідніх приміщень.

Профілактичні заходи щодо попередження пожеж і вибухів на виробництві:

- регулярне проведення пожежно-технічних обстежень;
- суворе дотримання норм і правил пожежної безпеки;
- застосування для горючих речовин герметичного обладнання і тари;
- заборона працювати з легкозаймистими речовинами на відкритому вогні і

поблизу електронагрівальних приладів;

- обов'язково передбачити план евакуації працівників та матеріальних цінностей на випадок пожежі.

Отже, для запобігання пожежам і вибухам слід перш за все забезпечити всі приміщення грамотним технічним обслуговуванням і засобами пожежогасіння відповідно до встановлених норм [28].

#### **4.6. Висновки до розділу**

Для того щоб забезпечити безпечні умови для праці на виробництві ми повинні дотримуватися відповідних правил:

- безпосередньо не контактувати з небезпечними та шкідливими факторами виробництва;
- дотримуватися технічних та організаційних заходів щодо зниження рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів на робочому місці;
- дотримуватися правил пожежної безпеки на виробництві.

Тому для запобігання небезпечним ситуаціям під час робочого процесу, насамперед, слід забезпечити всі приміщення грамотним технічним обслуговуванням та засобами пожежогасіння відповідно до встановлених норм.

## РОЗДІЛ 5

### ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

#### 5.1 Літературний огляд

Алое *barbadensis* Міллер - один з найбільш часто використовуваних рослин у трав'яних рослинах галузях промисловості, як для медичної, так і для косметичної продукції.

Щорічно понад мільйон тонн цієї рослини переробляється, і це вважається що тільки його гель має широке застосування, зовнішня шкірка зазвичай розкладаються або утилізуються. Листя шкірки алое вера багата вуглеводами та ін. полісахариди. Ці відходи переробляються для виробництво біогазу та спирту. Шкіряна частина алое рослина барбаденсіса Міллера, зібране під час гіроскопічної фільтрації обробляється та аналізується для подальшого промислового застосування. Відходи, що збираються після етапу гіроскопічної фільтрації у процесі виробництва порошку алое піддають дії певними обробками.

**Змішування / подрібнення:** Змішування або подрібнення можна проводити відповідно до вимоги будь-якого механічного двигуна можна використовувати

шліфувальну машину. Після того як висушена паста подрібнюється, порошок або отримані пластівці можуть бути використані у виробництві біогазу та алкоголю. Отриманий порошок сухого коричневого кольору.[33-37]

## 5.2 Розрахунок

Для отримання біогазу були використані наступні комбінації.

За продуктом {250 г} (без лужного травлення) + 100 мл води.

За продуктом {250 г} (після лужного травлення) + 100 мл води.

За продуктом {250 г} (без луцення) + коров'ячий гній (100 мл).

За продуктом {250 г} (з лужним травленням) + коров'ячий гній (100 мл).

Тільки коров'ячий гній {100 мл} + 250 мл води. Всі 5 видів щеплень є перероблений для біогазу в нагрітому середовищі приблизно 50 °С (аналогічно кількості). Для обчислення використовували манометр пляшки тиск, що розвинувся завдяки виробництву газу в установці. Показання проводили через 48 год інкубації.

**Виробництво алкоголю:** побічний продукт переробляється після лужної обробки для видалення мікробних елементів. Пізніше його прищеплюють до 4% культури дріжджів пекарів. Слоновий гній використовується для приготування відвару, і, як вважається, присутні факультативні анаеробні бактерії, які руйнуються комплексними полісахаридами до простих вуглеводів і виробляють алкоголь. Деградація целюлози проводиться аеробним або факультативним методом. Слон - це тварина, яка харчується лише рослинними речовинами. Її калові маси були піддані обстеженню і встановлено, що бактерії, присутні в калі. Ізолят зміг деградувати (200мг / 50 мл мінеральної солі целюлози) чиста целюлоза (Whatman 1-й клас) за 7 днів. Вся обробка робиться в анаеробних умовах. Колбу пробкують стерильним повітронепроникним бавовною і інкубують в шейкері протягом 6 днів.

### Тест на алкоголь

Окислення Джонса: Продукт піддають для окислення (з використанням комерційно доступного реагенту Джонса) це суміш триоксиду хрому та сірчаної кислоти.

Стандартний прийом: 1-бутанол, 2-бутанол або трет-бутиловий спирт.

Процедура: зібрані близько 10 мг або 2 краплі зразка після інкубації в шейкері розчиняють в 1мл чистого ацетону у киплячу пробірку і додають 2 краплі реагенту Джонса.

Тест Лукаса: застосовується комерційно доступний реагент Лукаса для цього тесту. Вибраними стандартами були 1-бутанол, 2-бутанол або т-бутиловий спирт. Приблизно до 0,2 мл або 0,2 г невідомого зразку (зібраний після інкубації) в пробірку додають 2 мл реагенту Лукаса при кімнатній температурі. Трубка закупорена і енергійно струсить. Пізніше суміш потрібно відстояти. Час, необхідний для утворення алкілхлориду відзначається форма нерозчинного шару або емульсії.

Показання, отримані в різних комбінаціях, є такіж. наступним чином: побічний продукт (без засвоєння лугу) = 0,008 мл / см<sup>2</sup>;

Побічний продукт (після засвоєння лугом) = 0,014 мл / см<sup>2</sup>; Побічний продукт (без засвоєння лугу) + коров'ячий гній = 0,034 мл / см<sup>2</sup>; Побічний продукт (з лужним травленням) + Коров'ячий гній = 0,047 мл / см<sup>2</sup>; Тільки коров'ячий гній = 0,029 мл / см<sup>2</sup>.

Результати показують, що за наявності коров'ячого гною, побічний продукт, що засвоюється лугом, дає більшу кількість біогазу. Видно, що через травлення та наявність лугу коров'ячий гній допомагає процесу перетворення складних органічних молекул до метану та вуглекислого газу.

**Алкоголь:** при окисненні Джонса протягом 15 с спостерігається зелений колір. Це є показником наявності алкоголю. Реакція з реактивом Лукаса також призвів до появи похмурого забарвлення або емульсії. Це спостереження також сприятливе для наявності алкоголю.



Після виснажливого процесу культури та інкубації обидва випробування принесли позитивні результати більшості щеплень використовуючи слонобий гній. Тести підтвердили вивільнення третинного а також первинного та вторинного спирту. Вибірковий процес може призвести до виробництва комерційно корисного алкоголю. [33-37]

### **5.3 Висновки до розділу**

З отриманих результатів передбачається, що відходи з виробництва алое можна використовувати як вторинну речовину для виготовлення біопалива та алкоголю. Екологічний ефект біогазового виробництва надає екологічно безпечну переробку органічних відходів з розвитком комплексних технологій утилізації біомаси за рахунок метанового зброджування.

## **ВИСНОВКИ**

1. Таким чином можна сказати, що рід алое є один із нарізновидніших, з давних часів люди навчилися використовувати його в лікувальних цілях (для шлункових розладів) а згодом і в косметології. Також алое є одною з найбільш популярних домашніх рослин через свою практичність та різновидність. Отже, у цьому огляді описана важлива особливість алоїну (алоїну) щодо його використання, фармакологічної активності та аналітичних методів, які можуть допомогти дослідникам у майбутньому розробити новий терапевтичний спосіб лікування різних ускладнень. Також у цьому огляді описана важлива особливість алоїну щодо його використання, фармакологічної активності та аналітичних методів, які можуть допомогти дослідникам у майбутньому розробити новий терапевтичний спосіб лікування різних ускладнень.

2. В даному розділі були описані методи за допомогою яких визначають кількості алоїну та алое-емодин в рослинах. Проведенний повний опис збору рослин різних ділянок з півночі на південь Індії, що охоплюють 6 агрокліматичних зон в даній країні. Також розібраний метод Високоєфективної тонкошарової хроматографії.

3. Екстракти алое вера, зібрані з холодних кліматичних регіонів, показали хорошу біологічну активність, а також наявність більшої кількості алоїну та алое-емодину порівняно зі зразками які були зібраними з тепліших кліматичних місць. Виявлено значну кореляцію між кількістю антрахінонів, що використовуються як маркерні сполуки, та значеннями EC50 для різних екстрактів алое. Хоча обидва антрахінони виявляли менший лікувальний потенціал порівняно з сирими екстрактами різних зразків алое. Різні кліматичні фактори впливають на кількість випробуваних сполук та лікувальний потенціал рослини в різних зразках алое вера.

4. Для того щоб забезпечити безпечні умови для праці на виробництві ми повинні дотримуватися відповідних правил:

- безпосередньо не контактувати з небезпечними та шкідливими факторами виробництва;

- дотримуватися технічних та організаційних заходів щодо зниження рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів на робочому місці;
- дотримуватися правил пожежної безпеки на виробництві.

Тому для запобігання небезпечним ситуаціям під час робочого процесу, насамперед, слід забезпечити всі приміщення грамотним технічним обслуговуванням та засобами пожежогасіння відповідно до встановлених норм.

## **СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Morton JF. Folk uses and commercial exploitation of Aloe leaf pulp. *Economic botany*. 1961;15(4):311-19.
2. Lans CA. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2006;2:45.
3. Grindlay D, Reynolds T. The Aloe vera phenomenon: a review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *J Ethnopharmacol*. 1986;16(2-3):117-51.
4. Collins CE, Collins C. Roentgen dermatitis treated with fresh whole leaf of Aloe vera. *American Journal of Roentgenology*. 1935;33(3):396-97.
5. Halles JS. A drug for all seasons. Medical and pharmacological history of aloe. *Bull N Y Acad Med*. 1990;66(6):647-59.
6. Rodriguez S. How Large is the Aloe Market. [PowerPoint presentation]. 2008. Accessed 07/03/2008, 2008.
7. CIREP CIREP. Final Report on the Safety Assessment of Aloe Andongensis Extract, Aloe Andongensis Leaf Juice, Aloe Arborescens Leaf Extract, Aloe Arborescens Leaf Juice, Aloe Arborescens Leaf Protoplasts, Aloe Barbadensis Flower Extract, Aloe Barbadensis Leaf. *Int J Toxicol*. 2007;26:1-50.
8. Dal'Belo SE, Gaspar LR, Maia Campos PM. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Res Technol*. 2006;12(4):241-46.
9. Thornfeldt C. Cosmeceuticals containing herbs: fact, fiction, and future. *Dermatol Surg*. 2005;31:873-80.
10. Diehl B, Teichmueller EE. Aloe vera, Quality inspection and identification. *Agro Food Ind Hi Tech*. 1998;9:14-6.
11. Ni Y, Turner D, Yates KM, Tizard I. Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. *Int Immunopharmacol*. 2004;4(14):1745-55.

12. Tai-Nin Chow J, Williamson DA, Yates KM, Goux WJ. Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of Aloe vera L. *Carbohydr Res.* 2005;340(6):1131-42.
13. Peirce A. The American Pharmaceutical Association Practical Guide to Natural Medicines. Vol 1. First ed: William Morrow; 1999.
14. Eberendu AR, Luta G, Edwards JA, et al. Quantitative colorimetric analysis of aloe polysaccharides as a measure of Aloe vera quality in commercial products. *J AOAC Int.* 2005;88(3):684-91.
15. Morrow DM, Rapaport MJ, Strick RA. Hypersensitivity to aloe. *Arch Dermatol.* 1980;116(9):1064-65.
16. Shoji A. Contact dermatitis to Aloe arborescens. *Contact Dermatitis.* 1982;8(3):164-67.
17. Nakamura T, Kotajima S. Contact dermatitis from aloe arborescens. *Contact Dermatitis.* 1984;11(1):51.
18. Hunter D, Frumkin A. Adverse reactions to vitamin E and aloe vera preparations after dermabrasion and chemical peel. *Cutis.* 1991;47(3):193-96.
19. Ferreira M, Teixeira M, Silva E, Selores M. Allergic contact dermatitis to Aloe vera. *Contact Dermatitis.* 2007;57(4):278-79.
20. Fogleman RW, Chapdelaine JM, Carpenter RH, McAnalley BH. Toxicologic evaluation of injectable acemannan in the mouse, rat and dog. *Vet Hum Toxicol.* 1992;34(3):201-05.
21. Williams LD, Burdock GA, Shin E, et al. Safety studies conducted on a proprietary high-purity aloe vera inner leaf fillet preparation, Qmatrix. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2010;57(1):90-8.
22. Fujii S. Evaluation of hypersensitivity to anthraquinone-related substances. *Toxicol.* 2003;193(3):261-67.
23. Brinker F. Herb Contraindications and Drug Interactions. 2nd ed: Eclectic Medical Publications; 1998.

24. Алесковскій В.Б., Бардін В.В., Булатов М.І. Фізико-хімічні методи аналізу. Практичне керівництво .- Л.: Хімія, 1988. - 376 с.
25. Ольшанова К.М. Практикум з хроматографічного аналізу. М., Вища. школа, 1970. -312с.
26. Державні санітарні норми та правила «Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу» – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0472-14>
27. Закон України «Про охорону праці» – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.help/law/2694-XII/edition20.01.2018>
28. КОДЕКС ЦИВІЛЬНОГО ЗАХИСТУ УКРАЇНИ (п.33) [Електронний ресурс] / Відомості Верховної Ради (ВВР). – 2013. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/540317?find=1&text=%EF%EE%E6%E5%E6%ED%E0+%E1%E5%E7%EF%E5%EA%E0>
29. НАПБ А.01.001-2004 Правила пожежної безпеки в Україні. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://deos-release.com/image/catalog/img/pdf/NAPB%20A.01.001-2014.pdf>
30. Державні санітарні правила і норми роботи з візуальними дисплейними терміналами електронно-обчислювальних машин. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0007282-98>
31. Про затвердження Державних санітарних норм та правил при роботі з джерелами електромагнітних полів. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0203-03>
32. Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://nbuviar.gov.ua/images/nub/Dmap/15\\_sanitar%20normy%20mikroklimatu.pdf](http://nbuviar.gov.ua/images/nub/Dmap/15_sanitar%20normy%20mikroklimatu.pdf)
33. K. Eshun and Q. He, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 44, 91 (2004).
34. M.D. Boudreau and F.A. Beland, J. Environ. Sci. Health, 24C, 103

(2006).

35. B.K. Vogler and E. Ernst, Br. J. Gen. Pract., 49, (447) 823 (1999).

36. J.M. Schmidt and J.S. Greenspoon, Obstetr. Gynecol., 78. 115 (1991).

37. S. Satish, K.A. Raveesha and G.R. Janardhana, Lett. Appl. Microbiol., 28, 145 (1999).