

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043540**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.31

(51) Int. Cl. *A23K 10/30* (2016.01)
C07C 403/24 (2006.01)

(21) Номер заявки
202190852

(22) Дата подачи заявки
2021.04.22

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЛУТЕИНОВОЙ ПАСТЫ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО КРИОСЫРЬЯ**

(31) **2020123797**

(32) **2020.07.17**

(33) **RU**

(43) **2022.01.31**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "СЕВЕРО-
ВОСТОЧНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.К.
АММОСОВА" (RU)**

ОСЕЦКИЙ А.И. и др. Криогенные технологии в производстве фармацевтических, косметических, агротехнических препаратов и биологически активных пищевых добавок. - ПРОБЛЕМЫ КРИОБИОЛОГИИ, 2009, т. 19, № 4, с. 488-499, реферат, с. 489, 1-й абзац, выводы

БОЛОТОВ В.М. и др. Технология получения, свойства и применение пищевых красителей на основе природных антоциановых и каротиноидных соединений. - ВЕСТНИК ТГТУ, 2018, т. 24, № 1, с. 124-133. DOI:10.17277/vestnik.2018.01.pp.124-133, экспериментальная часть, с. 126, 1- и 3-й абзацы

СТЕПАНОВА Э.Ф. и др. Выделение биологически активных веществ из растительных объектов в военно-полевой технологии лекарственных средств на примере крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.). - ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ, 2017, № 3, с. 134-139, резюме, с. 135, кол. 1, 6-й абзац, с. 136, кол. 2, 5-й абзац, рис. 1

RU-C1-2516637

СОФРОНОВА В.Е. и др. Фонд зеленых и желтых пигментов у ярового овса, культивируемого для получения криокорма в условиях Центральной Якутии. - АГРАРНЫЙ ВЕСТНИК УРАЛА, 2019, № 4, с. 72-77, весь текст

(72) Изобретатель:
**Чирикова Надежда Константиновна,
Нохсоров Василий Васильевич,
Петров Клим Алексеевич (RU)**

(74) Представитель:
Винокуров А.А. (RU)

(56) **RU-C2-2649338**

(57) Изобретение относится к биотехнологии, а именно к способам получения стабильной лютеиновой пасты с высоким содержанием биологически активных веществ, используемых в качестве кормов, производства медицинских и ветеринарных препаратов. Способ получения стабильной лютеиновой пасты на основе растительного криосырья, характеризующийся тем, что используют зеленое сырье - однолетний овес посевной (*Avena sativa* L.), собранный после воздействия естественного холода, который измельчают, растирая в жидком азоте, полученный замороженный порошок подвергают лиофильному высушиванию на лиофилизаторе, готовый лиофилизат экстрагируют 96% раствором этилового спирта с получением каротиноидных пигментов, содержащих лютеиновый комплекс, из расчета 8 мл спирта на 1 г лиофилизата, после чего раствор выпаривают под вакуумом до полного удаления этилового спирта. Использование изобретения позволяет получить стабильную лютеиновую пасту, содержащую лютеин и зеаксантин (лютеиновый комплекс) и β-каротин, на основе травянистых растений, адаптированных к условиям холодного климата. Кроме того, в изобретении используется естественный, климатический холод для получения каротиноидов и их последующего применения в качестве кормов и в производстве лекарственных препаратов для медицинских и ветеринарных целей, что, в целом, удешевляет технологические процессы.

B1**043540****043540****B1**

Изобретение относится к биотехнологии, а именно к способам получения стабильной лютеиновой пасты с высоким содержанием биологически активных веществ - хлорофиллов, каротиноидов, включающих в себя хлорофилл а и b, ксантофиллы, в том числе лютеин и зеаксантин (лютеиновый комплекс), а также β -каротин (провитамин А), используемых в качестве кормов, производства медицинских и ветеринарных препаратов.

Животные организмы и человек не способны синтезировать каротиноиды - важные регуляторы метаболизма, поступление которых напрямую связано с питанием. Растения являются главным и подчас единственным источником этих соединений для животных и человека. Из них наиболее известным является β -каротин - провитамин А (см. Карнаухов В.Н. Биологические функции каротиноидов. - М., 1988. - 197 с.). Синтезируемый на его основе витамин А (ретинол и его производные) признан эссенциальным пищевым компонентом для борьбы с инфекциями и высоким уровнем смертности (см. Маев И.В., Казюлин А.Н., Белый П.А. Витамины. - М.: МЕДпресс-информ, 2011. - 544 с.).

Современные исследования позволяют отнести каротиноиды, включая ксантофиллы, к ведущим соединениям, ответственным за поддержание зрительных функций. Ксантофиллы практически не обладают А-провитаминной активностью, но они эффективны как антиоксиданты и являются единственными из пигментов, транспортируемых в сетчатку глаз и формирующих желтый макулярный пигмент или макулярный ксантофилл, при этом стабилизируют и компенсируют дистрофические процессы в сетчатке (см. Wenzel A.J., Fuld K., Stringham J.M. Light exposure and macular pigment optical density// Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. - 2003. - V. 44(1). - P. 306-309).

В связи с этим поиск природных источников каротиноидов (лютеина и зеаксантина) достаточно актуален в настоящее время. Если для человека, в частности, источниками витамина А являются продукты животного происхождения - печень, масло, куриные яйца, а лютеина и зеаксантина (лютеиновый комплекс) - яичные желтки, а также шпинат и кукуруза (см. Маев И.В., Казюлин А.Н., Белый П.А. Витамины. - М.: МЕД пресс-информ, 2011. - 544 с.), то у травоядных сельскохозяйственных животных таковыми служат исключительно растительные корма. Для медицинских целей также используются лютеины, извлекаемые путем экстракции эфирным маслом из растений ноготков (*Calendula sp.*) и ряда сортов бархатцев (*Tagetes sp.*). Основные виды растений, выращиваемые для извлечения лютеинового комплекса, относятся к теплолюбивым, поэтому в промышленном масштабе производство каротиноидов сосредоточено в тропических и субтропических странах.

Известен способ производства каротина для балансирования кормовых рационов и средство для его осуществления (см. RU № 2355156, кл. А01D 91/04, А01F 29/00, В02С 13/04, опубл. 20.05.2009), включающий скашивание травы с плющением и сгребанием провяленной до 40% влажности травы в валки.

Недостатками данного способа являются отсутствие условий для сроков посева (для однолетних видов) и сбора травы, при которых достигается оптимальное содержание каротина. При этом известны только параметры, необходимые для уборки и последующей обработки заготавливаемых трав с целью наименьших потерь в них каротина. Кроме того, известное решение предусматривает производство только одного из индивидуальных каротиноидов, а именно каротина, а не комплекса всех содержащихся в растениях важных каротиноидов (лютеина, зеаксантина и др.).

В патенте US № 5648564 (кл. С07С 35/00, С07С 35/21, С07С 35/08, опубл. 15.07.1997) раскрывается способ омыления сложного эфира лютеина и очистка свободного лютеина. При этом омыление проводится при температуре 65-80°C, которая достаточно высока для того, чтобы вызвать разрушение лютеина. Кроме того, процесс омыления продолжается не менее 3 ч. Подобная длительная переработка в сочетании с высокой температурой также способствует к дополнительному разрушению лютеина. Реакцию проводят в пропиленгликоле, этаноле и водной щелочи, а образующаяся реакционная смесь из-за присутствия в ней воды представляет собой вязкий мылкий материал, в котором диспергируются кристаллы лютеина, откуда эффективно выделить весь свободный лютеин технологически сложно.

Известен способ выделения и очистки смешанных каротиноидов с высокой концентрацией специфических соединений (см. US № 6380442, кл. С07С 35/21, С07С 35/00, опубл. 30.04.2002), включающий гидролиз эфирного масла ноготков с использованием изопропилового спирта, воды и щелочи при температуре 60-65°C в течение 90 мин. А также известен способ очистки эфирного масла щелочью и кислотой (см. US № 6504067, кл. А23L 1/275, А23L 1/27, С07С 29/00, С07С 29/76, С07С 29/88, С07С 29/86, С09В 61/00, С07С 35/21, опубл. 07.01.2003), при котором очищенное эфирное масло подвергают водно-щелочному гидролизу при температуре 90°C в течение 8 ч в присутствии некоторых эмульгаторов, обеспечивающих эффективный контакт.

Недостатками известных решений также являются высокая температура и продолжительное время обработки, вызывающие разрушение лютеина. Кроме того, известные подходы не решают проблему эффективного выделения выпавших кристаллов свободного лютеина от плотной, илстой и мылкой смеси щелочных растворов.

Известен способ получения растительного сырья с повышенным содержанием каротиноидов из одно- и многолетних видов травянистых растений с высоким содержанием биологически активных веществ - каротиноидов (см. RU № 2649338, кл. А23К 10/30, опубл. 02.04.2018), включающий в себя

ксантофиллы, в том числе лютеин и зеаксантин (лютеиновый комплекс), а также β -каротин, используемые в качестве кормов и в производстве медицинских и ветеринарных препаратов.

Однако, известное техническое решение не предусматривает получение стабильной лютеиновой пасты с повышенным содержанием каротиноидов, в том числе на основе растительного криосырья, содержащего лютеиновый комплекс в препаративных количествах.

В качестве прототипа выбран способ получения стабильной лютеиновой пасты из эфирного масла (см. RU № 2321582, кл. C07C 403/24, C07C 35/21, опубл. 10.04.2008), в котором полученную лютеиновую пасту смешивают с 4-5 объемами спиртового растворителя из группы, включающей нормальные алифатические спирты, содержащие от одного до пяти атомов углерода (спирт выбирают из группы, включающей: метанол, этанол, пропанол, бутанол и пентанол).

Недостатками ближайшего аналога является разрешенное использование метанола в качестве растворителя, что небезопасно для потребителя (прием внутрь порядка 10 мл метанола может привести к тяжелому отравлению (см. Vale A (2007). "Methanol". *Medicine*. 35 (12): 633-4. DOI:10.1016/j.mpmed.2007.09.014)). Кроме того, лютеин извлекают путем экстракции эфирным маслом из растений ноготков (*Calendula sp.*), выращивание которых в условиях холодного климата (до -10°C) проблематично.

Вместе с тем, альтернативными источниками получения ксантофиллов могут служить районированные в условиях холодного климата высокоурожайные одно- и многолетние виды травянистых растений: овес, пырейник, кострец и некоторые другие, способные в условиях низкотемпературного стресса при использовании должной технологии накапливать значительные количества лютеина и зеаксантина (3,5-4,0 мг/г сырого остатка спиртового экстракта, см. RU № 2649338, кл. A23K 10/30, опубл. 02.04.2018).

Задача, на решение которой направлено заявленное изобретение, выражается в расширении ассортимента лютеиновых паст растительного происхождения, способов их получения и повышении содержания в пасте каротиноидов.

Техническим результатом является способ получения стабильной лютеиновой пасты, включающей лютеин и зеаксантин (лютеиновый комплекс) и β -каротин, на основе травянистых растений, адаптированных к условиям холодного климата. Кроме того, в заявленном решении используется естественный, климатический холод для получения каротиноидов и их последующего применения в качестве кормов и в производстве лекарственных препаратов для медицинских и ветеринарных целей, что в целом удешевляет технологические процессы.

Для решения поставленной задачи способ получения стабильной лютеиновой пасты из однолетнего овса посевного (*Avena sativa L.*) характеризуется тем, что используют зеленое сырье - однолетний овес посевной (*Avena sativa L.*), собранный после воздействия естественного холода, который измельчают, растирая в жидком азоте, полученный замороженный порошок подвергают лиофильному высушиванию на лиофилизаторе, готовый лиофилизат экстрагируют 96% раствором этилового спирта с получением каротиноидных пигментов, содержащих лютеиновый комплекс, из расчета 8 мл спирта на 1 г лиофилизата, после чего раствор выпаривают под вакуумом до полного удаления этилового спирта.

Заявленный технический результат достигается за счет того, что в качестве растительного сырья с высоким содержанием каротиноидов используются, например, растения семейства мятликовых (*Poaceae Barnhart*): однолетний овес посевной (*Avena sativa L.*).

Анализ признаков заявленного решения свидетельствует о соответствии заявленного решения критерию "новизна".

Совокупность существенных признаков обеспечивает решение заявленной технической задачи, а именно, получение лютеиновой пасты с повышенным содержанием каротиноидов.

Предлагаемое решение состоит в том, что за основу взято растительное криосырье с повышенным содержанием каротиноидов (лютеин+зеаксантин).

Таким образом, собранный после воздействия естественного холода растительный материал (криосырье) измельчают, далее помещают в фарфоровую чашку для получения замороженного порошка. Для чего, измельченное криосырье заливают жидким азотом и быстро растирают фарфоровым пестиком до получения замороженного порошка, при необходимости, доливая жидкий азот по мере выпаривания.

Замороженный растительный материал переносят в заранее приготовленные колбы для последующего лиофильного высушивания с помощью лиофилизатора, например, марки "VirTis" (США).

Далее, в готовый лиофилизат криосырья травянистых растений добавляют 96% этиловый спирт для экстракции каротиноидных пигментов, содержащих лютеиновый комплекс (лютеин+зеаксантин). При этом используют расчет: на 1 г лиофилизата - 8 мл этанола. После чего, растворы выпаривают под вакуумом в фарфоровых чашках до полного удаления этилового спирта. В результате получают лютеиновую пасту, содержащую лютеиновый комплекс (лютеин+зеаксантин).

Заявленное решение иллюстрируется чертежом, где на фиг. 1 показана схема получения стабильной лютеиновой пасты в препаративных количествах из зеленого криосырья *A. sativa*; на фиг. 2 - хроматографический снимок пигментов свежесобранных листьев *Avena sativa L.* после хроматографического разделения, где 1 - стартовая линия; 2 - неоксантин; 3 - виолаксантин; 4 - лютеин+зеаксантин; 5 - хлорофилл b; 6 - хлорофилл a; 7 - β -каротин; на фиг. 3 - хроматографический снимок пигментов лиофилизиро-

ванных листьев *Avena sativa* L. после хроматографического разделения, где 1 - стартовая линия; 2 - неоксантин; 3 - виолаксантин; 4 - лютеин+зеаксантин; 5 - хлорофилл b; 6 - хлорофилл a; 7 - β -каротин; на фиг. 4 - хроматографический снимок пигментов полученной лютеиновой пасты *Avena sativa* L. после хроматографического разделения, где 1 - стартовая линия; 2 - неоксантин; 3 - виолаксантин; 4 - лютеин+зеаксантин; 5- хлорофилл b; 6 - хлорофилл a; 7 - β -каротин; на фиг. 5 - результаты градиентной мультистеп-ВЭТСХ фракций из пасты *A. sativa* (обращенный режим съемки, I-XII - градиентная система растворителей гексан-ацетон (100:0→50:50)); на фиг. 6 - ВЭТСХ-денситограмма пасты *A. sativa* (SiO_2 ; CHCl_3 -MeOH- H_2O 14:7:1.1; детектор -анисовый альдегид/ H_2SO_4), ES(+)-МС-спектр зоны А (авенакозид В) и структурные формулы тритерпеновых гликозидов), где положения соединений А - авенакозид В, В - авенакозид А, С - 26-дезглюкоавенакозид В, D - 26-дезглюкоавенакозид А.

Таким образом, для экспериментальных работ получение стабильной лютеиновой пасты в препаративных количествах из зеленого криосырья *A. sativa* проводили по схеме, показанной на фиг. 1. При этом проводился постоянный контроль качественного и количественного состава каротиноидов, включая лютеин+зеаксантин, в исходном сырье, лиофилизированных листьях и в растительной пасте с помощью аналитической тонкослойной хроматографии (см. фиг. 2-4).

Из полученных данных следует, что в результате концентрирования пигментов в конечном продукте (лютеиновая паста) содержание суммарных и индивидуальных каротиноидов увеличивается на порядок (см. табл. 1).

Помимо изучения пигментного комплекса, полученного из овса посевного, авторами был исследован ряд многолетних травянистых растений (*Elytrigia repens* L., *Poa pratensis* L.), имеющие широкий ареал распространения в условиях Якутии (см. табл. 2, 3). При этом было показано, что в пырее ползучем суммарное содержание каротиноидов в лютеиновой пасте почти в два раза ниже, чем в пасте из мятлика лугового и в два раза выше, чем в пасте из овса.

Кроме того, исследованиями влияния длительности хранения полученной лютеиновой пасты в условиях низких положительных температур на сохранение каротиноидов у *A. sativa* показано, что содержание каротиноидов существенно не меняется (см. табл. 4).

Таким образом, исследованиями в лабораторных условиях было выявлено присутствие в полученной лютеиновой пасте *A. sativa* не менее 20 компонентов, в том числе 6 соединений группы хлорофиллов и 11 соединений каротиноидного ряда. Для идентификации применяли сравнительные данные о хроматографической подвижности (ВЭТСХ, ВЭЖХ), данные УФ-, ИК- и МС-спектрометрии (см. фиг. 5).

В результате идентификации в пасте *A. sativa* установлено присутствие шести хлорофиллов:

хлорофиллы a и b;

феофетины a и b;

феофорбиды a и b.

В составе каротиноидов обнаружено 11 соединений:

углеводороды - α -каротин, β -каротин, γ -каротин;

моноолы каротинов - α -криптоксантин, β -криптоксантин;

эпоксиды моноолов - эпоксиды криптоксантина (смесь изомеров);

диолы каротинов - лютеин, зеаксантин;

эпоксиды диолов - антраксантин (смесь изомеров);

диолы диэпоксидов - виолаксантин (смесь изомеров);

полиолы каротинов - неоксантин (смесь изомеров).

Для проведения количественной оценки содержания каждого из идентифицированных каротиноидов применяли ряд методов, в т.ч. ВЭЖХ и ВЭТСХ-денситометрию на неподвижной фазе оксид магния/кизельгур (см. Schwartz, Patroni-Killam, 1985). Доминирующие каротиноиды - лютеин и β -каротин (см. табл. 5).

Известно, что типичными представителями стеролов надземной части *A. sativa* являются авенакозиды А и В и их деглюкозилированные производные (см. Laudénbach, Kesselmeier, 1982). Их присутствие обнаруживается в растении в течение всего периода вегетации. Суммарное содержание стеролов в биомассе *A. sativa* из Якутии составило 0,8%, в пасте - 1,4%. Для выявления качественного состава применяли ВЭТСХ-денситометрический метод, который позволил установить присутствие четырех соединений А-D. Идентификацию осуществляли на основании данных хроматографической подвижности и масс-спектров (ES(+)-МС) с достоверными образцами терпенов (см. фиг. 6).

Выявленные соединения идентифицированы как авенакозид А (В), авенакозид В (А), 26-дезглюкоавенакозид А (D) и 26-дезглюкоавенакозид В (С). Согласно данным количественного анализа, соотношение соединений в пасте *A. sativa* составило 2.2:3.4:1:2.9, соответственно, для авенакозида А, авенакозида В, 26-дезглюкоавенакозида А и 26-дезглюкоавенакозида В.

Использование настоящего изобретения позволяет получить стабильную лютеиновую пасту, содержащий лютеин и зеаксантин (в среднем $3,5 \pm 0,2$ мг/г пасты) (лютеиновый комплекс) и β -каротин, на основе травянистых растений, адаптированных к условиям холодного климата. Кроме того, в заявленном решении используется естественный, климатический холод для получения каротиноидов и их после-

дующего применения в качестве кормов и в производстве лекарственных препаратов для медицинских и ветеринарных целей, что, в целом, удешевляет технологические процессы.

Таблица 1

Сравнительный анализ содержание индивидуальных каротиноидов в листьях овса Посевного (*Avena sativa* L.) и лютеиновой пасте полученного из криосырья

Вариант	Каротиноиды, мкг/г сырой массы				Сумма каротиноидов, мкг/г сырой массы	Сумма ксантофиллов, мкг/г сырой массы
	Нео	Вио	Лют+Зеа	β-кар		
Свежие листья	72,03±2,00	40,80±1,87	241,28±4,43	88,50±3,63	442,61	354,11
Лиоф. высуш. листья	83,26±6,67	47,20±9,28	345,70±6,38	110,86±12,05	587,02	476,12
Паста из криосырья	635,95±18,40	300,00±12,36	3562,79±40,73	1159,36±21,77	5658,10	4498,74

Таблица 2

Сравнительный анализ содержание индивидуальных каротиноидов в листьях пырея ползучего (*Elytrigia repens* L.) и лютеиновой пасте, полученного из криосырья

Вариант	Каротиноиды, мкг/г сырой массы				Сумма каротинидов, мкг/г сырой массы	Сумма ксантофиллов, мкг/г сырой массы
	Нео	Вио	Лют+Зеа	β-кар		
Свежие листья	75,46±3,21	69,07±0,69	252,09±3,50	133,91±3,16	530,53	396,62
Лиоф. высуш. листья	103,08±1,29	140,40±0,80	441,98±2,88	191,45±2,99	876,91	685,46
Паста из криосырья	499,56±18,31	258,00±12,00	1571,51±38,37	184,09±19,48	2513,16	2329,07

Таблица 3

Сравнительный анализ содержание индивидуальных каротиноидов в листьях мятлика лугового (*Poa pratensis* L.) и лютеиновой пасте полученного из криосырья

Вариант	Каротиноиды, мкг/г сырой массы				Сумма каротиноидов, мкг/г сырой массы	Сумма ксантофиллов, мкг/г сырой массы
	Нео	Вио	Лют+Зеа	β-кар		
Свежие листья	90,40±1,83	87,87±2,93	383,14±2,59	144,41±1,50	705,81	561,40
Лиоф. высуш. листья	124,10±2,38	128,40±14,12	498,84±15,03	213,55±10,94	964,88	751,33
Паста из криосырья	3764,51±98,43	1584,00±87,25	4861,92±105,54	833,52±59,36	11043,98	не опр.

Таблица 4

Содержание каротиноидов (лютеин+зеаксантин) растительной пасты из криосырья *Avena sativa* L. при разных сроках хранения в условиях низких положительных температур (+5°C)

Содержание каротиноидов (лютеин+зеаксантин), мг/г пасты				
26.02.13	18.04.13	17.07.13	15.08.13	17.09.13
3,5 ± 0,2	3,4 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,5 ± 0,2

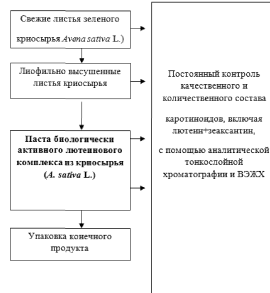
Таблица 5

Содержание индивидуальных каротиноидов в пасте *Avena sativa* L.

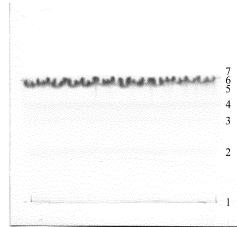
Соединение	Содержание, %, от суммы каротиноидов	Содержание, мг%, в пасте
α-каротин	1,7	14,25
β-каротин	24,9	208,64
γ-каротин	0,4	3,35
α-криптоксантин	0,3	2,51
β-криптоксантин	0,8	6,70
эпоксиды криптоксантина	0,6	5,06
лютеин	50,4	422,31
зеаксантин	1,6	13,41
антраксантин	0,4	3,35
виолаксантин	3,5	29,33
неоксантин	9,7	81,30
Сумма идентифицированных соединений	94,3	790,21

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

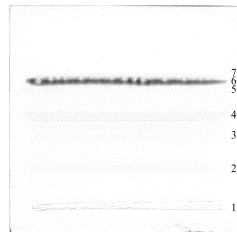
Способ получения стабильной лютеиновой пасты из однолетнего овса посевного (*Avena sativa* L.), характеризующийся тем, что используют зеленое криосырье, собранное после воздействия естественного холода, которое измельчают, растирая в жидком азоте, полученный замороженный порошок подвергают лиофильному высушиванию на лиофилизаторе, готовый лиофилизат экстрагируют 96% раствором этилового спирта с получением каротиноидных пигментов, содержащих лютеиновый комплекс, из расчета 8 мл спирта на 1 г лиофилизата, после чего раствор выпаривают под вакуумом до полного удаления этилового спирта.



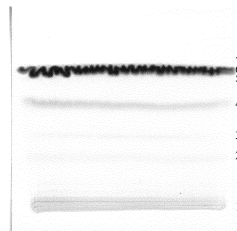
Фиг. 1



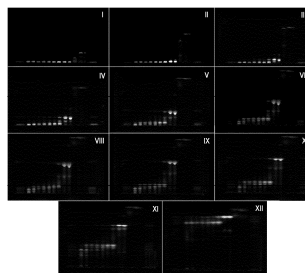
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

