

М.М. ШАУМЯН, Г.П. ОГАНЕСЯН

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Фенольные соединения растений обладают многочисленными биологическими функциями и оказывают различное воздействие на живые организмы, что обуславливает актуальность исследования вопросов их применения в различных областях. В представленной работе проведены исследования антиоксидантной активности фенольных соединений некоторых растений, произрастающих на территории Республики Армения (РА).

Для решения поставленной задачи были получены экстракты, содержащие фенольные соединения, с учетом растительных ресурсов РА. Учитывая, что конечной целью исследований является использование растительных экстрактов, содержащих фенольные соединения в качестве пищевых антиоксидантов, были проведены опыты с экстрактами, полученными с использованием воды в качестве наиболее безопасного, дешевого и экологически чистого экстрагента. На основании проведенных экспериментов сделан вывод о том, что для выделения фенольных соединений из исследуемых растений оптимальным условием является кипячение смеси растительного сырья и воды в соотношении 1:10 в течение одного часа.

Наличие фенольных соединений в составе полученных экстрактов было установлено качественными реакциями, а антиоксидантная активность исследуемых экстрактов изучалась спектрофотометрическим методом, основанным на реакции аутоокисления адреналина, а также методом окислительно-восстановительного титрования в кислой среде с использованием системы иодид калия – пероксид водорода.

Ключевые слова: фенольные соединения, антиоксидантная активность, растительные экстракты, противомикробные свойства, пищевые антиоксиданты.

Введение. В последние годы повысился интерес к использованию в качестве антиоксидантов природных фенольных соединений. Многими исследованиями доказано, что эти соединения, особенно флавоноиды, по своей антиоксидантной активности превосходят такие антиоксиданты, как аскорбиновая кислота и токоферолы. Биофлавоноиды - это обширная группа фенольных соединений растительного происхождения, имеющих общую дифенилпропановую структуру и обладающих так называемой Р-витаминной активностью. Успешное использование Р-витаминных препаратов при лечении и профилактике целого ряда заболеваний привлекло внимание многих исследователей, имеющих цель поиска новых источников и разработки технологии Р-витаминных препаратов.

Антиоксиданты - это природные или синтетические вещества, способные замедлять или останавливать окисление, что вызывает повышенный интерес исследователей, связанный с распространением окислительных процессов и их негативных последствий в различных сферах человеческой деятельности, в том числе в сельском хозяйстве, фармацевтике, медицине, пищевой промышленности и т.д.[1,2]. Противоокислительные свойства природных фенольных соединений обусловили возрастающее число исследований, направленных на изучение физиологического действия фенольных соединений на организм человека, нахождение новых источников фенольных соединений, их применение в технологии различных пищевых продуктов. Свободные радикалы рассматриваются как причина возникновения многих болезней. Для борьбы с повышенным числом свободных радикалов недостаточно собственных антиоксидантов, и введение дополнительных антиоксидантов посредством пищи способствует повышению антиоксидантного статуса организма [3].

В качестве антиоксидантов применяются как синтетические соединения, так и вещества природного происхождения. Однако известно, что синтетические пищевые добавки очень часто оказывают токсическое воздействие при нарушении технологических режимов применения или превышении дозировки [4]. В связи с этим в настоящее время большое внимание уделяется применению антиоксидантов природного происхождения. Известны антиоксидантные свойства природных фенольных соединений растительного происхождения [5,6]. Как показали проведенные ранее исследования, фенольные соединения по своей антиоксидантной активности превосходят многие природные и синтетические антиоксиданты. В связи с вышесказанным исследование антиоксидантных свойств фенольных соединений, выделенных из различных растений, актуально и имеет важное научное и практическое значение. В настоящее время проведено большое количество исследований по применению и разработке технологии использования растительных экстрактов, содержащих биологически активные вещества, такие как фенольные соединения, каротиноиды, витамины и др., в молочных продуктах, хлебобулочных и кондитерских изделиях, алкогольных и безалкогольных напитках. Известно большое число научных статей, обзоров и монографий по применению растительных экстрактов, проявляющих антиоксидантные свойства в технологии мясных продуктов, особенно жиросодержащих. Многие авторы считают, что противоокислительные свойства этих экстрактов связаны именно с фенольными соединениями и, прежде всего, флавоноидами. Поэтому при выборе перспективного сырья для получения антиоксидантов особое внимание должно уделяться растениям с повышенным содержанием фенольных соединений [7].

Целью работы является исследование антиоксидантной активности фенольных соединений некоторых растений, произрастающих на территории Республики Армения.

Для решения поставленной задачи нами были проведены исследования полученных ранее нами экстрактов, содержащих биофлавоноиды, с учетом растительных ресурсов республики.

Постановка задачи и методы исследования. Фенольные соединения из растений были экстрагированы водой, 40- и 70%-ми водными растворами этанола и 96%-ым этиловым спиртом [4]. Так как конечной целью наших исследований является использование экстрактов, содержащих растительные фенольные соединения в качестве пищевых антиоксидантов, эксперименты проводились с экстрактами, полученными с использованием воды как наиболее безопасного, дешевого и экологически чистого экстрагента.

Для определения оптимальных условий выделения фенольных соединений исследовалось влияние на процесс экстракции соотношения сырья и экстрагента, температуры, продолжительности процесса экстракции, способа экстракции.

Исследован процесс экстракции фенольных соединений при соотношении сырья и растворителя 1:2, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40. Степень экстракции фенольных веществ определялась спектрофотометрическим методом по величине оптической плотности раствора. Установлено, что при увеличении соотношения сырья и растворителя увеличивается и степень экстракции, но начиная с соотношения 1:10 она практически не изменяется. Таким образом, наибольшее количество фенольных соединений извлекается при соотношении 1:10.

Для определения влияния температуры на степень извлечения фенольных соединений измельченные растения смешивали с водой в оптимальном соотношении 1:10 и выдерживали в течение одного часа при температурах 20, 50, 80 °С и при кипячении. После выдержки в течение одного часа экстракт отфильтровывали и определяли оптическую плотность для установления степени экстракции фенольных соединений. Результаты проведенных опытов показали, что наиболее полно фенольные вещества извлекаются при кипячении.

Оптимальное время кипячения было установлено на основании серии опытов, при которых измельченное растительное сырье смешивали с водой в соотношении 1:10, кипятили в колбе с обратным холодильником. Время кипячения варьировали от 10 мин до 1,5 часа. Полученные результаты показали, что после 40...60 мин кипячения смеси сырья с водой с увеличением времени оптическая плотность экстракта, пропорциональная концентрации фенольных веществ, остается постоянной.

Таким образом, на основании проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что для выделения фенольных соединений из различных частей исследуемых растений оптимальным условием является кипячение сырья и воды, взятых в соотношении 1:10 в течение одного часа.

Наличие фенольных соединений в составе полученных экстрактов было установлено качественными реакциями и ультрафиолетовым спектрофотометрическим методом.

Определение антиоксидантной активности спектрофотометрическим методом проводилось следующим образом: к бикарбонатному буферному раствору (рН=10,65) объемом 2 мл добавлялось 0,1% раствора гидрохлорида адреналина (0,1мл). Через 10 минут определялась оптическая плотность раствора при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм на спектрофотометре СФ-46 (ОП1). Затем к такому же объему бикарбонатного буферного раствора добавлялось 0,03 мл исследуемого экстракта и 0,1 мл 0,1% раствора гидрохлорида адреналина. Через 10 минут в условиях, идентичных эталонному анализу, измерялась оптическая плотность смеси (ОП2). Антиоксидантная активность (АОА) рассчитывалась по формуле

$$АОА = (ОП1 - ОП2) \cdot 100 / ОП1.$$

Для определения антиоксидантной активности исследуемых экстрактов был применен также метод окислительного восстановительного титрования - йодометрический метод окислительно-восстановительного титрования, основанный на реакции восстановления пероксида водорода иодидом калия в кислой среде. Выделявшийся в результате реакций йод титровался раствором тиосульфата натрия.

В колбу для титрования вносили по 1мл 0,05М раствора пероксида водорода, 5мл 0,01н. раствора йодида калия, 2 мл 2Н серной кислоты, 2 капли 1%-го водного раствора молибдата аммония и 3 капли 1%-го водного раствора крахмала. Через 1 мин титровали выделившийся йод 0,01М раствором тиосульфата натрия. Для определения ингибирующего действия экстрактов фенольных соединений, выделенных из изучаемых растений, в колбу для титрования, помимо указанных реактивов, приливали также определенный объем экстракта. Антиоксидантную активность экстрактов вычисляли по формуле

$$АОА = (V0 - V1) \cdot 100 / V0,$$

где V0 – объем тиосульфата натрия, израсходованный на титрование выделившегося йода без добавления экстракта фенольных соединений, мл; V1 – объем

тиосульфата натрия, израсходованный на титрование выделившегося йода при добавлении экстракта фенольных соединений, *мл*.

Результаты исследования и их обсуждение. Выбор видов для исследования растения основан на литературных данных. В качестве сырья для выделения фенольных соединений нами были выбраны следующие растения: базилик фиолетовый (лат. *Ocimum basilicum*), Melissa лекарственная (лат. *Melissa officinalis*), мята садовая (лат. *Mentha spicata*), мята полевая (лат. *Mentha arvensis*), пустырник пятилопастный (лат. *Leonurus*), бегония (лат. *Begonia*), гранат обыкновенный (лат. *Punica granatum*), бодяк разнолистный, (лат. *Cirsium heterophyllum*) щавель шпинатный (лат. *Rumex patientia*), шалфей луговой (лат. *Salvia*), первоцвет весенний (лат. *Primula*), календула лекарственная, (лат. *Calendula officinalis*), рожь посевная (лат. *Secale cereale*), соя культурная (лат. *Glycine max*), лиственница сибирская (*L. sibirica*), ирис карталинский (лат. *Iris carthaginiensis*). Эти растения произрастают на территории Республики Армения, принадлежат к различным семействам и родам и, согласно литературным данным, содержат различные фенольные соединения. Были использованы листья, стебли, корни растения, собранные в летний период в Ереванском ботаническом саду, Степанаванском дендропарке. Некоторые растения семейства яснотковых – мята полевая, мята садовая, базилик фиолетовый, Melissa, культивировались нами в домашних условиях.

Высушенное на воздухе при комнатной температуре растительное сырье измельчали, смешивали с водой в соотношении 1:10 (10 г сырья и 100 мл воды) и кипятили в колбе в течение одного часа.

В исследованных нами экстрактах наличие фенольных соединений определялось с помощью ионов алюминия общепринятым методом определения фенольных соединений в растительном сырье [5]. Реакция комплексообразования с хлоридом алюминия позволяет определить наличие фенольных соединений по появлению окраски раствора от бледно-желтого до ярко-желтого цвета. В табл. 1 приведены результаты качественного анализа на содержание фенольных соединений в экстрактах.

Таблица 1

Наличие фенольных соединений в составе полученных экстрактов исследуемых растений

Растение			Окраска	
Семейства	Род	Вид	исходного раствора	комплекса с хлоридом алюминия
Яснотковые	Мята	Мята полевая	светло-зеленый	темно-зеленый
Яснотковые	Яснотковые	Мята садовая	нежно-зеленый	ярко-зеленый
Яснотковые	Мелисса	Мелисса лекарственная	светло-желтый	темно-желтый
Яснотковые	Бasilik	Бasilik фиолетовый	светло-фиолетовый	синевато-зеленый
Яснотковые	Пустырник	Пустырник пятилопастный	светло-желтый	светло-зеленый
Бегониевые	Бегония	Бегония	нежно-зеленый	темно-зеленый
Дербенниковые	Гранат	Гранат обыкновенный	светло-красный	серо-зеленый
Астровые	Бодяк	Бодяк разнолистный	светло-оранжевый	светло-зеленый
Гречишные	Щавель	Щавель шпинатный	кремовый цвет	нежно-зеленый
Яснотковые	Шалфей	Шалфей луговой	кремовый цвет	нежно-зеленый
Первоцветные	Первоцвет	Первоцвет весенний	нежно-коричневый	темно-зеленый
Астровые	Календула	Календула лекарственная	серебряный	нежно-коричневый
Злаки	Рожь	Рожь посевная	кремовый цвет	светло-зеленый
Бобовые	Соя	Соя культурная	светло-коричневый	светло-зеленый
Сосновые	Лиственница	Лиственница сибирская	серебряный	светло-желтый
Ирисовые	Ирис	Ирис карталинский	светло-коричневый	нежно-коричневый

Темно-желтый и темно-зеленый цвета указывают на то, что мята полевая, мята садовая, базилик фиолетовый, Melissa лекарственная и бегония способны накапливать значительные количества фенольных соединений. Зеленый цвет говорит о возможном присутствии в экстракте флавонов [4].

Антиоксидантная активность исследуемых экстрактов (табл. 2) изучалась с использованием двух методов: спектрофотометрического, основанного на реакции аутоокисления адреналина [6], и метода окислительно-восстановительного титрования в кислой среде с использованием медиаторной системы иодид калия – пероксид водорода [8]. За результат испытаний принимали среднее арифметическое двух параллельных определений.

Таблица 2

п/п	Экстракты	Антиоксидантная активность, %	
		Спектрофотометрический метод	Йодометрический метод
1	Мята полевая (лат. <i>Méntha arvensis</i>)	60	61.19
2	Мята садовая (лат. <i>Méntha spicata</i>)	65	69.12
3	Базилик фиолетовый (лат. <i>Ocimum basilicum</i>)	80	79.38
4	Мелисса лекарственная (лат. <i>Melissa officinalis</i>)	60	78.0
5	Пустырник (лат. <i>Leonurus</i>)	70	76.20
6	Бегония (лат. <i>Begonia</i>)	60	56.3
7	Гранат (лат. <i>Púnica granátum</i>)	60	68.0
8	Бодяк (лат. <i>Círsium heterophýllum</i>)	47	52.19
9	Щавель (лат. <i>Rúmex patiéntia</i>)	75	65.21
10	Первоцвет (лат. <i>Primula</i>)	65	61.11
11	Календула (лат. <i>Caléndula officinális</i>)	78	79.12
12	Рожь (лат. <i>Secale cereale</i>)	50	58.13
13	Соя (лат. <i>Glycine max</i>)	60	75.1
14	Лиственница (<i>L. sibirica</i>)	70	78.0
15	Ирис (лат. <i>Iris carthaliniae</i>)	50	52.20

Антиоксидантная активность водных экстрактов исследуемых растений

Согласно данным, представленным в табл. 2, можно сделать вывод о том, что все исследованные растения содержат фенольные соединения, которые обеспечивают высокую антиоксидантную активность.

Заключение. Для решения поставленной задачи проведены исследования экстрактов, содержащих фенольные соединения, полученные с учетом растительных ресурсов Республики Армения.

Проведенное исследование экстрактов растительной массы 15 видов растений, произрастающих на территории Армении, свидетельствует о высокой степени содержания в них природных фенольных соединений.

Полученные данные позволяют рассматривать возможность и целесообразность применения водных экстрактов некоторых растений в качестве антиоксидантов в технологии пищевых продуктов, а также в качестве сырья для получения лекарственных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалинцева Н.В.** Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия. - Lambert AP, 2012. - 488 с.
2. **Митасева Л.Ф., Дегтярев П.С., Седалищева А.Н.** Использование экстрактов растений в качестве антиоксидантов // Мясная индустрия. - 2002. - №12. – С. 78-79.
3. **Корнильев Г.В.** Получение экстрактов с повышенным содержанием фенольных веществ из листьев нектарина // Вісник Запорізького національного університету. -2009. -№2. – С. 161-165.
4. **Тураева Г.Н.** Применение природных фенольных соединений в качестве антиоксидантов в технологии жиросодержащих пищевых продуктов: Дис. ... к.т.н.- Душанбе, 2018. -148 с.
5. **Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музыкакина Р.А., Толстиков Г.А.** Природные флавоноиды // Биоорг. химия. – Новосибирск, 2000. - Т. 26, № 3. - С. 215 - 223.
6. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / **С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Д.Т. Гашимова, Э.Х. Галиахметова, Е.А. Клыш** // Вестник ВГУ. Серия: Химия, биология, фармация. – 2007. - № 11. – С.163-166.
7. Растительные антиоксиданты в производстве мясных изделий / **Е.Е. Плотников, Г.В. Глазова, Л.А. Ашихина, А.П. Гавриленко А.А. Жучков** // Мясная индустрия. –2010. - №7. -С.26-28.
8. **Медетова Д.Р.** Получение и физико-химические свойства энтеросорбента на основе растительного материала: Дис. ... к. х. н. – Саратов, 2016. – 135 с.

Մ.Մ. ՇԱՀՈՒՄՅԱՆ, Գ.Պ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ԲՈՒՍԱՎԱՆ ՀՈՒՄՔԻ ԶՐԱՅԻՆ ԷՔՍՏՐԱԿՏՆԵՐԻ ՀԱՎԱՕՔՍԻԴԱՆՏԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՌԻՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ

Բույսերի ֆենոլոգիան միացություններն ունեն բազմաթիվ կենսաբանական գործառույթներ և բազմազան ազդեցություն կենդանի օրգանիզմների վրա, որով էլ պայմանավորված է տարբեր ոլորտներում դրանց օգտագործման հետ կապված հետազոտությունների արդիականությունը: Ներկայացվում է Հայաստանի Հանրապետության տարածքում աճող որոշ բույսերի ֆենոլոգիան միացությունների հակաօքսիդանտային ակտիվության ուսումնասիրությունը: Այդ նպատակով ուսումնասիրություններ են կատարվել կենսաքիմիական ցուցանիշներ պարունակող էքստրակտների ստացման ուղղությամբ՝ հաշվի առնելով Հայաստանի Հանրապետության բուսական ռեսուրսները:

Հետազոտության վերջնական նպատակն է ֆենոլոգիան միացություններ պարունակող բուսական էքստրակտներն օգտագործել որպես սննդային հակաօքսիդանտներ, ուստի էքստրակցիան իրականացվել է ջրի՝ որպես ամենաանվտանգ, տնտեսապես և էկոլոգիապես մաքուր էքստրագենտի օգտագործմամբ:

Կատարված փորձերի հիման վրա եզրակացություն է արվել, որ ուսումնասիրված բույսերից ֆենոլոգիան միացությունների կորզման համար օպտիմալ է հումքը և ջուրը 1:10 հարաբերակցությամբ եռացնել մեկ ժամվա ընթացքում:

Ֆենոլոգիան միացությունների առկայությունը ստացված էքստրակտներում հաստատվել է որակական ռեակցիաներով, իսկ էքստրակտների հակաօքսիդանտային ակտիվությունն ուսումնասիրվել է երկու եղանակով՝ սպեկտրոլուսաչափական մեթոդով, որը հիմնված է ադրենալինի ինքնաօքսիդացման ռեակցիայի վրա, և ռեդոքս տիտրման եղանակով՝ օգտագործելով կալիումի յոդիդ-ջրածնի պերօքսիդ համակարգը թթվային միջավայրում:

Առանցքային բաղադր. ֆենոլոգիան միացություններ, հակաօքսիդանտային ակտիվություն, բույսերի էքստրակտներ, հակաօքսիդացնող հատկություններ, սննդային հակաօքսիդանտներ:

M.M. SHAHUMYAN, G.P. HOVHANNISYAN

**STUDYING THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WATER EXTRACTS
FROM VEGETABLE RAW MATERIALS**

Phenolic compounds of plants have numerous biological functions and have a diverse effect on living organisms, which determines their use in various fields and the relevance of their research. This work presents a study of the antioxidant activity of phenolic compounds of some plants growing on the territory of Republic of Armenia. To achieve this goal, studies were carried out to obtain preparations containing bioflavonoids, taking into account the plant resources of Republic of Armenia. Since the ultimate goal of research is the use of plant extracts containing phenolic compounds as food antioxidants, studies have been carried out with extracts obtained using water as the safest, most economical and environmentally friendly solvent. Based on the experiments carried out, it was concluded that for the isolation of phenolic compounds from the studied plants, it is optimal to boil raw materials and water taken in a ratio of 1:10 for 1 hour.

The presence of phenolic compounds in the composition of the obtained extracts was established by qualitative reactions, and the antioxidant activity of the investigated extracts was studied using two methods - the spectrophotometric method based on the autooxidation reaction of adrenaline and the method of redox titration using the potassium iodide - hydrogen peroxide system in an acidic medium.

Keywords: phenolic compounds, antioxidant activity, plant extracts, antioxidant properties, food antioxidants.