

УДК 543:547.56:547.972.2

Р. Е. Хома, А. Н. Чеботарев, С. В. Топоров, К. И. Ляшенко
Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
химический факультет, кафедра аналитической химии,
ул. Дворянская, 2, Одесса 65082, Украина, e-mail: alexch@ukr.net

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Исследована антиоксидантная активность экстрактов из растительного сырья, обладающего гепатопротекторными свойствами. Сделана сравнительная оценка между содержанием полифенольных соединений и флавоноидов в указанных экстрактах и их антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: растительные экстракты, гепатопротекторы, антиоксидантная активность, полифенольные соединения, флавоноиды.

Экстракты из растительного сырья являются ценными природными источниками антиоксидантов, обладающими, гепатопротекторными свойствами [1]. Благодаря их окислительно-восстановительной активности указанные вещества обладают противовоспалительными, антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами, а также препятствуют развитию фиброза печени. Однако, на сегодняшний день не существует достаточных литературных данных, о влиянии природы экстрагента и растительного сырья на состав получаемых экстрактов. В связи с этим одной из задач аналитической химии является не только разработка, но и сравнительная характеристика результатов экспрессных и сравнительно недорогих методов анализа доброкачественности экстрактов из растительного сырья [2].

Целью данной работы является установление влияния природы растительного сырья (гепатопротекторов) и экстрагентов на компонентный состав полученных экстрактов и их антиоксидантную активность.

Методика эксперимента

В качестве объектов исследования выбраны высушенные кукурузные рыльца, трава расторопши, трава бессмертника, трава солянки холмовой, трава эхинацеи (сбор июнь 2011 г., юг. Одесской области). В качестве экстрагентов были выбраны 1-пропанол, 2-пропанол, этанол и диэтиловый эфир.

Для получения экстрактов из растительного сырья аналитическую пробу измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 1 мм [3]. Навеску (около 1,00 г) помещали в колбу со шлифом емкостью 100 мл, добавляли 30 мл экстрагента, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут. После этого колбу охлаждали до комнатной температуры под струей холодной воды и фильтровали содержимое через бумажный фильтр в мерную колбу емкостью 100 мл (экстракцию повторяли 2 раза указанным выше способом, полученные вытяжки фильтровали в ту же колбу через тот же фильтр). Фильтр промывали выбранным экстрагентом и доводили объем фильтрата растворителем до метки.

Суммарное содержание фенольных соединений в экстрактах определяли спектрофотометрически с использованием фенольного реагента Фолина-Чиокалтеу [3]. Аликвоту (1 мл) экстракта или стандартного раствора 3,4,5-тригидроксобензойной кислоты (20, 40, 60, 80 и 100 мг/л) помещали в мерную колбу емкостью 25 мл, содержащую 9 мл H₂O. После этого добавляли 1 мл фенольного реагента Фолина-Чиокалтеу и перемешивали. Через 5 мин. добавляли 10 мл 7% раствора Na₂CO₃, доводили H₂O до 25 мл H₂O и снова перемешивали. После выдерживания при комнатной температуре в течении 90 мин. измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 750 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм. Суммарное содержание полифенольных соединений (СПС) в экстрактах определяется количеством эквивалентов 3,4,5-тригидроксобензойной кислоты, содержащейся в 1 л экстракта (ммоль/л).

Содержание флавоноидов в полученных экстрактах определяли спектрофотометрически [3]. Аликвоту экстракта (4 мл) помещали в мерную колбу емкостью 25 мл, добавляли 2 мл 2% раствора хлорида алюминия в 95% этаноле и доводили объем до метки 95% C₂H₅OH. Через 20 минут измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения: 4 мл экстракта помещали в мерную колбу объемом 25 мл, добавляли 1 каплю разведенной хлороводородной кислоты и доводили объем раствора 95% этанолом до метки. Суммарное содержание флавоноидов (СФ, %) в пересчете на авикулярин в абсолютно сухом сырье в процентах вычисляли по формуле

$$СФ = \frac{A \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25}{330 \cdot m \cdot (100 - W)}, \quad (1)$$

где А – оптическая плотность исследуемого экстракта; 330 – удельный показатель поглощения комплекса авикулярина с хлоридом алюминия при 410 нм; m – масса сырья в граммах; W – убыль массы при высушивании в процентах.

Антиоксидантную активность (АОА) полученных экстрактов определяли потенциометрически с использованием в качестве медиаторной системы Fe³⁺/Fe²⁺ [4, 5]. Стеклообразную электрохимическую ячейку заполняли 10 мл 0,015 М К-Na фосфатного буферного раствора (рН = 7,40), добавляли 0,10 мл 1,0 М раствора K₃[Fe(CN)₆] и 0,1 мл 0,01 М раствора K₄[Fe(CN)₆]. Погружали в ячейку платиновый и хлоридсеребрянный (ЭВЛ-1МЗ) электроды, выдерживали систему до установления постоянного значения потенциала (Е). Добавляли аликвоту (0,5 мл) исследуемого раствора и затем вновь измеряли потенциал (Е₁) и рассчитывали концентрацию антиоксидантов по формуле

$$АОА = \frac{\alpha C_{ox} - C_{red}}{1 + \alpha}, \quad (2)$$

где $\alpha = 10^{(E-E_1)/b} \times C_{red}/C_{ox}$, $b = 2,3RT/nF$, $n = 1$; E и E₁ – окислительно-восстановительные потенциалы системы, устанавливаемые до и после ввода анализируемого образца антиоксиданта, В; E₀ – стандартный окислительно-восстановительный потенциал медиаторных систем, В; C_{ox} – концентрация окисленной формы медиатора, моль/л; C_{red} – концентрация восстановленной формы медиатора, моль/л; АОА – молярная концентрация эквивалента антиоксидантов, вступившие во взаимодействие с окисленным компонентом медиаторных систем, ммоль/л.

Потенциометрические измерения выполняли с помощью иономера универсального ЭВ-74. Указанные методики отличаются экспрессностью выполнения анализа, относительно невысокой себестоимостью оборудования.

Результаты исследований и их обсуждение

Данные по АОА, СПС и СФ экстрактов из лекарственного растительного сырья представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1
Суммарное содержание полифенольных соединений (СПС, ммоль/л), флавоноидов (СФ, %) и антиоксидантная активность (АОА, моль/л) экстрактов из растительного сырья

Объекты	Экстрагенты	АОА, ммоль/л	СПС, ммоль/л	СФ, %
Кукурузные рыльца	1-Пропанол	4,37	0	0,24
	2-Пропанол	4,37	0,56	0,24
	Этанол	9,68	2,25	0,24
	Диэтиловый эфир	4,37	1,26	0,27
Трава расторопши	1-Пропанол	0	0	0,42
	2-Пропанол	4,37	0,54	0
	Этанол	4,37	1,26	0,76
	Диэтиловый эфир	4,37	1,50	6,06
Трава бессмертника	1-Пропанол	0	0	0
	2-Пропанол	4,37	0,73	0,46
	Этанол	4,37	1,26	0,78
	Диэтиловый эфир	4,37	0,09	0,24
Трава солянки холмовой	1-Пропанол	0	1,26	0
	2-Пропанол	4,37	0	0,27
	Этанол	4,37	0	0,19
	Диэтиловый эфир	9,68	0	0,06
Трава эхинацеи	1-Пропанол	4,37	0	0,09
	2-Пропанол	0	0	0,09
	Этанол	4,37	0	1,67
	Диэтиловый эфир	4,37	1,03	0,12

Согласно полученным данным, наибольшей извлекающей способностью по отношению к антиоксидантам из кукурузных рылец обладает этанол; из расторопши и бессмертника 2-пропанол, этанол и диэтиловый эфир одинаково извлекают АО, а 1-пропанол практически их не извлекает. В случае солянки холмовой наибольшей извлекающей способностью АО обладает диэтиловый эфир, а 1-пропанол их практически не извлекает. Для эхинацеи 1-пропанол, этанол и диэтиловый эфир одинаково извлекают АО, а 2-пропанол практически их не извлекает.

Таблица 2

Суммарное содержание полифенольных соединений (СПС, ммоль/л), флавоноидов (СФ, %) и антиоксидантная активность (АОА, моль/л) водно-этанольных экстрактов из растительного сырья

Объекты	$\omega_{\text{этанол}}$, %	АОА, ммоль/л	СПС, ммоль/л	СФ, %
Кукурузные рыльца	50	0	0	0,27
	60	4,4	0,56	0,24
	70	4,4	2,25	0,24
	90	6,4	1,26	0,24
Трава расторопши	50	0	0	0,24
	60	0	0,54	0,24
	70	11	1,26	0,33
	90	12,2	1,50	0,76
Трава бессмертника	50	0	0	0,42
	60	4,4	0,73	0,42
	70	4,4	1,26	0,43
	90	9,8	1,26	0,46
Трава солянки холмовой	50	0	1,26	0,06
	60	0	0	0,09
	70	3,5	0	0,13
	90	5,4	0	0,19
Трава эхинацеи	50	0	0	0,07
	60	0,8	0	0,09
	70	2,5	0	0,23
	90	12,2	1,03	0,67

Для водно-этанольных экстрактов кукурузных рылец, эхинацеи, солянки холмовой, бессмертника и расторопши с возрастанием содержания этанола в его смеси с водой (от 50 до 90 %) увеличивается АОА полученных экстрактов.

Из эхинацеи полифенольные соединения извлекает только диэтиловый эфир, а из солянки холмовой – 1-пропанол (табл. 1). СПС в случае экстрактов бессмертника увеличивается в ряду

1-пропанол < диэтиловый эфир < 2-пропанол < этанол,

для расторопши:

1-пропанол < 2-пропанол < этанол < диэтиловый эфир,

для кукурузных рылец:

1-пропанол < 2-пропанол < диэтиловый эфир < этанол.

При экстрагировании водно-этанольными растворами с увеличением содержания в них спирта (от 50 до 90 %) содержание полифенольных соединений уменьшается для экстрактов эхинацеи, бессмертника, кукурузных рылец и солянки холмовой в отличие от их антиоксидантной активности (табл. 2).

Из расторопши и солянки холмовой 1-пропанол практически не извлекает флавоноиды, а бессмертника – 2-пропанол (табл. 1).

Содержание флавоноидов в случае эхинацеи увеличивается в ряду
1-пропанол \approx 2-пропанол < диэтиловый эфир < этанол;
для бессмертника:

2-пропанол < 1-пропанол < этанол < диэтиловый эфир;

для расторопши:

1-пропанол < диэтиловый эфир < 1-пропанол < этанол,

для кукурузных рылец:

1-пропанол \approx 2-пропанол \approx этанол < диэтиловый эфир.

Для эхинацеи наибольшее содержание флавоноидов при экстракции 50 % этанолом, повышение концентрации этанола от 60 до 90 % практически не влияет на СФ; в случае бессмертника, расторопши, кукурузных рылец и солянки холмовой наибольшее СФ для 90 % раствора, а этанола – 60 % (табл. 2).

Таким образом, природа экстрагента, также как и вид растительного сырья существенно влияют на содержание полифенольных соединений, флавоноидов, а также антиоксидантную активность полученных экстрактов. Каждый из указанных показателей является существенно индивидуальным, что согласуется с литературными данными [6, 7].

Список літератури

1. Ушколова Е.А. Место Эссенциале Н в современной медицине. // Рац. фармакотер. заболеваний органов пищеварения, 2003. – С. 90-92
2. Atanassova M., Georgieva S., Ivancheva K. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs // Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy. – 2011. – V. 46. – No. 1. – P. 81-88.
3. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – 398 с.
4. Brainina Kh.Z., Ivanova A.V., Sharafutdinova E.N., Lozovskaya E.L., Shkarina E.I. Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation // Talanta. – 2007. – V. 71. – P. 13–18.
5. Шарафутдинова Е.Н. Потенциометрия в исследовании антиоксидантной активности объектов растительного происхождения : Автореферат дис. ... канд. хим. наук : 02.00.02 / Ур. гос. техн. ун-т. – Екатеринбург, 2007. – 21 с.
6. Rina R., Rafiqzaman M., Hasmah A. Spectrophotometric determination of total phenol and flavonoid content in manjakani (*Quercus Infectoria*) extracts // Health and the environment journal. – 2011. – V. 2. – No. 1. – P. 9-13.
7. Чеботарьев О.М., Хома Р.С., Прохоренкова Р.С., Чумаченко К.О. Електрохімічні властивості екстрактів з рослинної сировини // Вопросы химии и хим. технол. – 2011. – №4(2). – С.269-270.

Стаття надійшла до редакції 14.12.13

Р. Є. Хома, О. М. Чеботарьов, С. В. Топоров, К. І. Ляшенко

Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,
хімічний факультет, кафедра аналітичної хімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса 65026, Україна, e-mail: alexch@ukr.net

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСТРАКТІВ ІЗ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Досліджено антиоксидантну активність екстрактів з рослинної сировини, що володіє гепатопротекторними властивостями. Зроблена порівняльна оцінка між вмістом поліфенольних сполук і флавоноїдів у зазначених екстрактах та їх антиоксидантною активністю.

Ключові слова: рослинні екстракти, гепатопротектори, антиоксидантна активність, поліфенольні сполуки, флавоноїди.

R. E. Khoma, A. N. Chebotaryov, S. V. Toporov, K. I. Lyashenko

I.I. Mechnikov Odessa National University,
Department of Analytical Chemistry,
Dvoryanskaya St., 2, 65026, Odessa, Ukraine, e-mail: alexch@ukr.net

ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF EXTRACTS FROM PLANTS

The antioxidative activity of extracts from plants with hepatoprotective properties have been investigated. Make a comparative evaluation between the content of flavonoids and polyphenolic compounds in the extracts and their antioxidant activity.

Keywords: plant extracts, hepatoprotectors, antioxidant activity, polyphenolic compounds, flavonoids.