

УДК 582.71+582.943:577.1

А.В. БАШИЛОВ

ИНГИБИРОВАНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЭКСТРАКТАМИ, ПОЛУЧЕННЫМИ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ РАЗЛИЧНЫХ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ

Antioxidizing activity of extracts received from air-dry raw material *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Filipendula hexapetala* Gilib. and *Polemonium caeruleum* L. a period of storage one and two years had similar curve kinetic inhibition of processes peroxidical oxidations lipids *in vitro* in comparison with vegetative raw not subjected to long storage. On a background of prolongation of a period of storage registered decrease in antioxidizing activity of extracts. For a vegetative material a period of storage decrease antioxidizing activity has on the average made one year: *F. ulmaria* – 3,2 %, *P. caeruleum* – 4,0 %, *F. hexapetala* – 6,9 %. For two years of storage: *P. caeruleum* – 5,0 %, *F. ulmaria* – 5,5 %, *F. hexapetala* – 8,8 %.

В процессе хранения продуктов питания наиболее лабильные компоненты окисляются, что, как правило, приводит к снижению пищевой ценности продукта. Для предупреждения этих процессов часто в качестве добавок применяют антиоксиданты (АО). Использование природных антиокислителей, которые являются также полезными функциональными добавками, представляется наиболее перспективным по сравнению с их искусственно синтезированными аналогами. Основными критериями для отбора растительного сырья в качестве источника АО являются: высокое содержание действующих веществ, безопасность для человека, доступность сырья в природе или несложная технология его культивирования. К таким растениям можно отнести: синюху голубую (*Polemonium caeruleum* L.), лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) и лабазник шестилепестный (*Filipendula hexapetala* Gilib.) [1, 2].

Заготовленное и высушенное лекарственное сырье используется по мере надобности, поэтому значительная его часть подлежит хранению. При несоблюдении всех условий хранения растительное сырье теряет свои целебные качества или полностью приходит в негодность. Следовательно, важным представлялось исследование динамики антиоксидантной активности (АОА) воздушно-сухого лекарственного сырья представленных видов в процессе хранения.

Материал и методика

Объектами исследования являлись экстракты соцветий, листьев и подземных органов *P. caeruleum*, *F. ulmaria* и *F. hexapetala* [3].

Оценку АОА экстрактов проводили на примере модельной системы перекисного окисления масла льна (ТУ 9141-002-55854031-03) молекулярным кислородом. Количественные параметры перекисного окисления липидов регистрировали на основании перекисного числа –

стандартного показателя, основанного на измерении значения условной единицы, эквивалентной количеству йода, выделяющегося из пробы, содержащей йодид калия, с обусловленной единицы массы масла перекисными соединениями, которые образуются в масле при окислении молекулярным кислородом. Введение в систему флавоноид-содержащих экстрактов (0,2 %), полученных из растительного сырья изученных видов одного и двух лет хранения, вызывало изменение концентрации липоперекисей, что отражалось на значениях перекисного числа. Инкубацию модельной системы проводили в течение 200 сут. В качестве контроля использовали масло льна, стандартом сравнения АОА служил кверцетин (Sigma), содержание которого в системе составило 0,2 %, что соответствует массовому содержанию общей суммы флавоноидов в изученных экстрактах в пересчете на кверцетин [4].

Все анализы проводили в четырехкратной повторности, полученные результаты статистически обрабатывали с использованием компьютерной программы «Statistica 6.0», данные считали достоверными при $P < 0,05$. Диапазон, в котором с заданной вероятностью находили исследуемые величины для генеральной совокупности, рассчитывали с помощью доверительного интервала для среднего.

Результаты и их обсуждение

Ранее нами была показана кинетика ингибирования перекисного окисления экстрактами, полученными из растительного сырья одного месяца хранения [5]. Следующим этапом было изучение кинетики ингибирования неферментативного перекисного окисления льняного масла экстрактами, полученными из растительного сырья, подвергнутого хранению сроком один год.

Наибольшую АОА показал экстракт соцветий *F. ulmaria*. Индукционный период ингибирования окисления жирных кислот составил 70 сут, что свидетельствует о высоком уровне АОА растительного экстракта по сравнению с контролем (50 сут). На 90-е сут экспозиции уровень пероксидации равнялся $0,61 \pm 0,03$ мг/100 г, что значительно ниже контроля ($1,42 \pm 0,03$ мг/100 г), на 110-е сут данный показатель возрос до $0,72 \pm 0,04$ мг/100 г. Увеличение времени инкубации постепенно снизило АОА экстракта: в конечной точке детектирования (200 сут) значение перекисного числа составило $1,74 \pm 0,09$ мг/100 г, что на 29,3 % выше по сравнению с кверцетином и на 44,9 % ниже контроля.

Степень ингибирования процессов пероксидации экстрактом листьев *F. ulmaria* уступает по АОА только экстрактивным веществам соцветий *F. ulmaria*. Индукционный период ингибирования регистрировали в течение 50 сут экспозиции модельной системы. Среднее значение перекисного числа для фазы индукции равнялось $0,36 \pm 0,02$ мг/100 г, что на 13,8 % выше по сравнению со стандартом АОА – кверцетином и на 9,2 % выше контроля.

Дальнейшая динамика накопления липоперекисей приводила к постепенному снижению АОА. Начиная с 50 сут концентрация продуктов пероксидации увеличивалась и в точке 70 сут значение перекисного числа составило $0,48 \pm 0,03$ мг/100 г, что выше соответствующего уровня для кверцетина на 31,2 %. Во временном интервале 90–150 сут АОА экстракта равнялась $0,87 \pm 0,05$ мг/100 г в пересчете на перекисное число. Минимум АОА экстракта зарегистрирован на 200-е сут экспозиции модельной системы и составил $1,81 \pm 0,08$ мг/100 г, что ниже уровня пероксидации контроля на 42,7 % и выше на 32,0 % кверцетина.

Индукционный период ингибирования процессов пероксидации *in vitro* экстрактом соцветий *F. hexapetala* составил 90 сут и схож с таковым для кверцетина. Уровень перекисного числа в фазе индукции $0,37 \pm 0,02$ мг/100 г, что на 42,2 % ниже по сравнению с контролем.

Увеличение времени инкубации до 110 сут вызвало повышение накопления липоперекисей *in vitro* до $0,56 \pm 0,02$ мг/100 г. Данный показатель выше соответствующего для кверцетина на 7,1 %. Далее регистрировали снижение АОА, что отразилось на концентрации продуктов пероксидации. В точке экспозиции 150 сут перекисное число составило $1,36 \pm 0,10$ мг/100 г, а в конечной точке инкубации (200 сут) – $1,96 \pm 0,11$ мг/100 г, что на 37,2 % выше по сравнению со стандартом АОА – кверцетином.

Начальная фаза индукции ингибирования реакций пероксидации экстрактивными веществами листьев *F. hexapetala* аналогична контролю. Среднее значение перекисного числа для нее составило $0,30 \pm 0,01$ мг/100 г. Начиная с 50 сут экспозиции регистрировали увеличение

содержания липоперекисей *in vitro*. На 70-е сут уровень последних достиг $0,59 \pm 0,03$ мг/100 г в пересчете на перекисное число.

Увеличение времени экспозиции до 110 сут вызвало повышение интенсивности накопления продуктов пероксидации. В точке титрования, соответствующей 130 сут, перекисное число составило $1,07 \pm 0,05$ мг/100 г, а в конечной точке титрования – $2,18 \pm 0,16$ мг/100 г, что на 43,5 % выше по сравнению с кверцетином и на 31,0 % ниже процессов пероксидации контроля.

Индукционный период ингибирования для экстракта подземной части *F. ulmaria* регистрировали в течение 50 сут экспозиции модельной системы, уровень пероксидации равнялся в среднем $0,37 \pm 0,01$ мг/100 г. Увеличение времени инкубации вызвало значительное снижение АОА растительных АО, что отразилось на значении перекисного числа. Уже на 70-е сут уровень пероксидации системы был $0,63 \pm 0,03$ мг/100 г.

Далее интенсивность ингибирования процессов перекисного окисления липидов снизилась незначительно и в точке титрования, соответствующей 110 сут экспозиции, составила $0,96 \pm 0,05$ мг/100 г, что на 45,8 % выше по сравнению с кверцетином и на 38,4 % ниже контроля. В точке, соответствующей 130 сут, регистрировали снижение накопления липоперекисей до $1,18 \pm 0,03$ мг/100 г, после чего произошел скачок интенсивности перекисного окисления растительных липидов. Об этом говорят следующие данные: в точках титрования, соответствующих интервалам экспозиции 170 и 200 сут, перекисное число составило $1,56 \pm 0,06$ мг/100 г и $2,06 \pm 0,04$ мг/100 г соответственно, что в среднем на 36,7 % выше по сравнению с кверцетином.

Результаты исследования АОА экстракта соцветий *P. caeruleum* показали индукционный характер ингибирования реакций перекисного окисления липидов в течение 70 сут экспозиции. Среднее значение уровня продуктов пероксидации в данном временном интервале равнялось $0,33 \pm 0,02$ мг/100 г в пересчете на перекисное число.

Пролонгация времени инкубации вызвала повышение уровня липоперекисей *in vitro* начиная с 70 сут. В точке, соответствующей 90 сут инкубации, значение перекисного числа составило $0,85 \pm 0,03$ мг/100 г, что на 62,3 % выше по сравнению с кверцетином и на 40,1 % ниже уровня пероксидации контроля.

В точках титрования 110 и 130 сут произошло частичное наложение кривых пероксидации для экстрактов соцветий и листьев *P. caeruleum*. Среднее значение перекисного числа для обеих систем $1,01 \pm 0,05$ мг/100 г. В конечной точке титрования уровень пероксидации составил $2,18 \pm 0,13$ мг/100 г, что на 43,5 % выше кверцетина.

Индукционный период ингибирования для экстракта корней и корневищ *F. hexapetala* регистрировали в течение 70 сут экспозиции модельной системы. Уровень перекисного числа равнялся $0,34 \pm 0,02$ мг/100 г. Пролонгация времени инкубации вызвала снижение АОА растительных АО, что отразилось на интенсивности процессов пероксидации. В точке, соответствующей 90 сут, АОА составила $0,78 \pm 0,03$ мг/100 г в пересчете на перекисное число, что на 58,9 % выше по сравнению с кверцетином и на 45,0 % ниже контроля.

Максимум пероксидации регистрировали на 110-е сут – $1,24 \pm 0,08$ мг/100 г, что на 58,0 % выше по сравнению с АО – кверцетином и на 20,5 % ниже контроля. Дальнейшее увеличение времени экспозиции модельной системы привело к затуханию интенсивности процессов пероксидации, среднее значение которых $1,31 \pm 0,06$ мг/100 г в пересчете на перекисное число. Затем регистрировали вторичное повышение уровня перекисного окисления, которое в конечной точке титрования (200 сут) составило $2,31 \pm 0,12$ мг/100 г.

Период ингибирования процессов пероксидации экстрактом листьев *P. caeruleum* в модельной системе равнялся 50 сут. После фазы индукции АОА экстрактивных веществ монотонно снижалась по мере роста времени экспозиции. На 70-е сут инкубации уровень перекисного окисления растительных липидов достиг значения $0,48 \pm 0,02$ мг/100 г, что на 31,2 % выше по сравнению с кверцетином и на 47,8 % ниже контроля.

В точках титрования 90 и 110 сут регистрировали незначительное повышение накопления липоперекисей в среде инкубации с экстрактом листьев *P. caeruleum* L. Среднее значение перекисного числа составило $0,78 \pm 0,04$ мг/100 г, что на 47,6 % ниже по сравнению с уровнем пероксидации масла льна без добавления АО. Далее произошло сближение зависимости уровня накопления продуктов пероксидации от длительности экспозиции для экстрактов листьев и соцветий.

тий *P. caeruleum*. В конечной точке титрования уровень перекисного числа для растительных АО равнялся $2,35 \pm 0,14$ мг/100 г, что ниже уровня перекисидации контроля на 25,6 %.

Фаза индукции ингибирования процессов перекисидации при добавлении экстракта корней и корневищ *P. caeruleum* составила 50 сут. Увеличение времени экспозиции модельной системы до 70 сут незначительно снизило уровень ингибирования реакций перекисидации – $0,48 \pm 0,02$ мг/100 г, что на 31,2 % выше по сравнению с кверцетином. Интенсивность процессов перекисного окисления при дальнейшей инкубации возросла и в точке титрования 90 сут равнялась $0,93 \pm 0,06$ мг/100 г, что в среднем на 64,5 % выше по сравнению с фазой индукции. В точке экспозиции 110 сут регистрировали снижение процессов ингибирования перекисного окисления липидов *in vitro*. В пересчете на перекисное число средний уровень перекисидации составил $1,19 \pm 0,06$ мг/100 г.

Уровень перекисидации во временном интервале 130–170 сут был зафиксирован $1,52 \pm 0,07$ мг/100 г и $2,45 \pm 0,13$ мг/100 г соответственно, что в среднем на 50,7 % выше по сравнению со стандартом АОА – кверцетином и на 21,8 % ниже контроля. В конечной точке детектирования значение перекисного числа модельной системы составило $2,63 \pm 0,13$ мг/100 г, что на 16,7 % меньше контроля. Из всех изученных образцов экстракт, полученный из корней и корневищ *P. caeruleum*, показал минимальную АОА.

Кинетика ингибирования неферментативного перекисного окисления льняного масла растительными экстрактами, полученными из воздушно-сухого сырья сроком хранения два года, аналогична кинетике для экстрактов из растительного сырья сроком хранения один год, но уступает по АОА.

Во всех экстрактах из сырья одного года хранения было выявлено снижение АОА с 1 до 10 % по сравнению с исходным значением АОА растительного сырья, не подвергавшегося длительному хранению [5]. Минимум снижения АОА зарегистрирован для экстрактивных веществ листьев *P. caeruleum* (1 %). Далее идут экстракты из листьев и соцветий *F. ulmaria* – 2,7 и 2,8 % соответственно. В экстрактивных веществах соцветий *P. caeruleum* АОА снизился по сравнению с исходным уровнем на 5,5 %.

Одинаковый уровень снижения интенсивности процессов перекисидации *in vitro* показали экстрактивные вещества подземных органов представителей *Filipendula* Mill. – 4,3 %. Для экстрактов из подземной части *P. caeruleum*, соцветий и листьев *F. hexapetala* снижение составило 5,7, 6,6 и 10,0 % соответственно.

Увеличение срока хранения лекарственного растительного сырья до двух лет вызвало дальнейшее уменьшение АОА растительных экстрактов. Максимум падения АОА зарегистрирован для экстрактивных веществ листьев и соцветий *F. hexapetala*, по сравнению с исходным уровнем он составил 11,3 и 10,2 % соответственно.

Растительные образцы: соцветия *F. ulmaria* и подземные органы *P. caeruleum* показали одинаковое снижение АОА на 6,8 %, подземная часть представителей рода *Filipendula* – на 6,19 и 5,1 % для *F. ulmaria* и *F. hexapetala* соответственно. Минимум падения АОА в процессе хранения – 2 и 3,8 % соответственно – был установлен в листьях *P. caeruleum* и *F. ulmaria*.

Согласно данным кинетики ингибирования перекисного окисления липидов растительными экстрактами, было установлено, что экстрактивные вещества листьев и подземных органов не влияют на индукционный период процессов перекисидации (время фазы индукции совпало с аналогичной фазой для контроля 25,0 % от общего времени экспозиции модельной системы), а АОА проявили на 50-е сутки экспозиции. Экстракты соцветий пролонгировали индукционный период на 28,5 % по сравнению с контролем.

На основании значений уровня перекисидации в конечной точке титрования (200 сут) растительные образцы можно расположить в следующий ряд в порядке возрастания антиокислительной активности: подземная часть и листья *P. caeruleum*, < корни и корневища *F. hexapetala*, < соцветия *P. caeruleum*, < подземная часть *F. ulmaria*, < листья и соцветия *F. hexapetala*, < листья и соцветия *F. ulmaria*.

Экстракты, полученные из воздушно-сухого растительного сырья сроком хранения один и два года, имели сходную кинетику ингибирования процессов перекисного окисления липидов *in vitro* по сравнению с динамикой снижения перекисидации липидов экстрактами из рас-

тительного сырья сроком хранения один месяц. При увеличении сроков хранения регистрировали снижение АОА экстрактов. Для материала одного года хранения снижение АОА от исходного уровня в среднем составило: *F. ulmaria* – 3,2 %, *P. caeruleum* – 4,0 %, *F. hexapetala* – 6,9 %; для двух лет хранения: *P. caeruleum* – 5,0 %, *F. ulmaria* – 5,5 %, *F. hexapetala* – 8,8 %.

Таким образом, в ходе исследования АОА *in vitro* было показано, что экстрактивные вещества, полученные из воздушно-сухого растительного сырья соцветий, листьев и подземных органов *F. hexapetala*, *F. ulmaria* и *P. caeruleum* различных сроков хранения, оказывают ингибирующее действие на процессы перекисного окисления липидов.

На примере модельной реакции перекисидации льняного масла, инициируемой молекулярным кислородом, изучена динамика ингибирования перекисного окисления липидов растительными экстрактами. Установлено, что экстрактивные вещества листьев и подземных органов не влияют на индукционный период процессов перекисидации: время фазы индукции совпало с аналогичным для контроля и составило 1/4 от общего времени экспозиции модельной системы. Экстракты, полученные из соцветий, вызвали увеличение индукционного периода на 3,5 % по сравнению с контролем.

На фоне пролонгации срока хранения регистрировали снижение АОА экстрактов. Для материала одного года хранения снижение АОА по сравнению с исходным уровнем в среднем составило: *F. ulmaria* – 3,2 %, *P. caeruleum* – 4,0 %, *F. hexapetala* – 6,9 %; для двух лет хранения: *P. caeruleum* – 5,0 %, *F. ulmaria* – 5,5 %, *F. hexapetala* – 8,8 %.

На основе полученных данных экстракты из соцветий, листьев и подземных органов *F. ulmaria*, *F. hexapetala* и *P. caeruleum* можно рекомендовать в качестве ингибиторов перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот в различных пищевых системах.

1. Башилов А.В., Решетников В.Н. // Материалы международной научно-практической конференции (Нарочанские чтения), Минск – Нарочь, 27–30 сент. 2006 г. / Центральный ботанический сад НАН Беларуси; редкол.: В.Н. Решетников и др. Мн., 2006. С. 4–12.

2. Башилов А.В., Решетников В.Н., Кухарева Л.В. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2007. № 1. С. 114.

3. Косман В.М., Зенкевич И.Г. // Растительные ресурсы. 2001. Т. 37. Вып. 4. С. 123.

4. Годовальников Г.В. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Общие методы контроля качества лекарственных средств. Мн., 2006. С. 127.

5. Башилов А.В. // Вестн. БГУ. Сер. 2. 2007. № 2. С. 65.

Поступила в редакцию 25.09.07.

Антон Вячеславович Башилов – аспирант отдела биохимии и биотехнологии ЦБС НАН Беларуси. Научный руководитель – академик НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор В.Н. Решетников.