БІОЛОГІЯ

УДК 631.95:54.05:615.073
http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13076

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ПОЛІФЕНОЛІВ У РОСЛИННИХ ВИТЯЖКАХ

Н. Ю. ГРИБОВА, *кандидат хімічних наук,*
старший науковий співробітник, кафедри загальної, органічної та фізичної хімії
Національний університет біоресурсів та природокористування України
E-mail: hrybova_n@i.ua

Анотація. *Рослинні харчові продукти та лікарські рослини є цінним джерелом біологічно-активних речовин (БАР), їх споживання у харчовому раціоні дозволяє здійснювати профілактичну та лікувальну дію при різних патологічних станах організму. Серед БАР значна увага належить поліфенольним антиоксидантам. У роботі виготовлено рослинні витяжки з висушеної рослинної сировини: кори, коренів та листя, що використовуватися в лікарській практиці. Методом інфрачервоної спектрофотометрії*

(ІК-спектроскопії) за функціональними групами: гідроксильними (-ОН) та карбоксильними (-СООН) проведена структурно-групова оцінка вмісту поліфенолів в рослинних витяжках. У спектрах рослинних витяжок кори дуба та калини, листя мучниці в області 3400 см-1 спостерігаються широкі смуги поглинання високої інтенсивності, які відносяться до частот асоційованих зв'язків О-Н, смуги при 3606-3622 см-1 (υОН) обумовлені вільними гидроксилами, а при 3626-3654 см-1 (υОН) просторово-екранованими гідроксилами, що виявлені в найбільшій кількості, серед досліджених витяжок, на спектрах листя мучниці. У складі витяжок кори та коренів рослин виявлені ефіри фенолкарбонових та оксикорічних кислот (1500 см-1, 1140-1000 см-1 υС-О-С, υС=С-О-С), проте названі смуги поглинання характеризуються значно меньшою інтенсивністю на спектрах витяжок листя мучниці. Смуги в області 1600-1700 см-1 характерні для карбоксильних груп γ-піронового циклу флавоноїдів і хинонів. Відповідно до інтенсивностей ідентифікованих піків сумарний вміст фенольних сполук у витяжках знижується в наступному ряді: листя мучниці (Arctostaphylos Uva-ursi) > кори дуба (Quercus cortex) > кори калини (Cortex Viburni) > кореневища з коренями оману (Inulae Rhizomata Et Radices) > кореневище і корінь родовика (Rhizoma et radix Sanguisorbae).

Ключові слова: *рослинні витяжки, поліфенольні сполуки, лабораторний контроль, інфрачервона спектрофотометрія*

Актуальність.

Сфера лабораторного контролю рослинної сільськогосподарської продукції, відповідно до сучасних потреб аналізування, розширюється та оновлюється, користуючись новими методами лабораторних досліджень показників безпечності та якості продукції харчування [1, 2]. Розвиток лабораторного контролю відбувається завдяки ринковим процесам, орієнтації українських виробників на зовнішні ринки збуту продукції, з новими для українських виробників вимогами. Сільськогосподарська продукція має відповідати нормативам з різних регуляторних документів, що встановлюють вимоги щодо придатності продукції для реалізації, її безпечності встановленої згідно з рекомендованою методикою [3]. Також, новим викликом для виробників рослинної продукції стає виготовлення органічної продукції харчування та функціональних харчових продуктів з певною біологічною цінністю, оскільки безпечні, з точки зору санітарно-гігієнічних вимог, деякі продукти рослинництва є цінним джерелом біологічно-активних сполук, що проявляють профілактичну та лікувальну дію за різних патологічних станів організму людини [4].

Аналіз останніх досліджень та публікацій.

Серед біологічно-активних сполук значна увага приділяється антиоксидантам, а саме поліфенольним сполукам рослинного походження. Багаті поліфенолами харчові продукти здатні підсилювати захисні сили організму в протидії багатьом хворобам. Наприклад, додавання екстрактів листя базиліка до корму під час годування хворих піддослідних тварин, дозволило збагатити корм біологічно-активними сполуками, що посилювали роботу захисної системи організму, спричиняли детоксикацію ксенобіотиків та індукцію антиоксидантів в організмі лабораторних тварин. Додавання екстрактів листя базиліка дозволило зменшити пухлинні новоутворення, зменшити показники перекисного окиснення ліпідів та збільшити концентрації глутатіон-S-трансферази, що є важливою ланкою внутрішньоклітинної антиоксидантної системи [5]. В дослідженні [6] встановлено, що етанольні витяжки листя селери проявляли потужну інгібувальну активність щодо процесу утворення кінцевих продуктів глікації транспортних, позаклітинних та внутрішньоклітинних білків, та виконували одну з провідних ролей у попередженні вторинних діабетичних ускладнень. Хімічні сполуки екстрактів листя селери вивчали методами рідинної хроматографії з мас-селективним детектуванням (ВЕРХ/МС/МС) та оцінювали їх властивості в дослідах in vitro. Основними поліфенолами, що містяться в екстрактах листя селери, є: апігенін, кемпферол, рутин, кавова кислота, ферулова кислота, хлорогенова кислота, кумароновая кислота. Позитивні для здоров'я ефекти, що спостерігаються в сучасних дослідженнях після вживання екстрактів сільськогосподарських та лікарських рослин не поодинокі та цілком підтверджені [7, 8].

Разом із тим залишається питання про збалансоване використання в харчовому раціоні рослинної сировини та функціональних харчових продуктів. Розв'язання цього питання мож-

на розпочати з аналізу традиційних для українських споживачів витяжок лікарської рослинної сировини, отримання яких відбувається в домашніх умовах. Дослідити вміст поліфенольних сполук в витяжках можна різними по складності та повноті надання інформації, щодо переліку хімічних сполук, методами. З точки зору технічного оснащення методи хроматографії є найскладнішими, між тим перелік виявлених хімічних сполук обумовлений режимами хроматографічного дослідження, спрямованого на розділення та ідентифікацію за аналітичними стандартами хімічних речовин [6].

Простішими методами є спектрофотометричні методи, що добре себе зарекомендували в експрес аналізуванні хімічних речовин та використовуються для виявлення як індивідуальних сполук, так і групи або класу речовин за специфічними функціональними групами [9], у тому числі й в лабораторному контролі фармацевтичних препаратів. Наприклад, метод інфрачервоної спектрофотометрії (ІЧ-спектроскопії), належить до абсорбційних спектроскопічних методів, базується на здатності молекул поглинати ІЧ-випромінювання зі збільшенням коливальної та обертальної енергій ковалентного зв'язку між атомами в молекулі, застосування цього методу для визначення в екстрактах біологічно-активних речовин не потребує руйнування молекул аналітів під час випробування [9], що дозволяє провести повторні випробування та отримати статистично вірогідні результати. На основі ІЧ-спектрів можна проводити якісний та кількісний аналіз поліфенолів, порівнювати результати різних лабораторій без втрати аналітів зразку. ІЧ-спектрофотометрія, як метод аналізу функціональних груп поліфенольних сполук: гідроксильних (-ОН) та карбоксильних (-СООН), описується в літературі в аналізі полімерних матеріалів, для котрих встановлено, що положення смуг поглинання в ІЧ-області однакових функціональних груп молекул різних хімічних сполук ідентичне [9], дозволяє проводити структурно-групову оцінку і визначати загальну кількість реакційно здатних функціональних груп.

Мета дослідження – з'ясування можливостей методу ІК-спектрофотометрії для оцінки вмісту поліфенольних сполук у складі рослинних витяжок.

Матеріали і методи дослідження.

Рослинні витяжки отримано в оптимальних умовах методу мацерації [10] як екстрагент застосовано етанол (кваліфікації х.ч.). Сировина для процесу екстрагування: кора дуба (Quercus cortex), кора калини (Cortex Viburni), листя мучниці (Arctostaphylos Uva-ursi), кореневище і корінь родовика (Rhizoma et radix Sanguisorbae), кореневища з коренями оману (Inulae Rhizomata Et Radices).

Для встановлення вмісту в рослинних витяжках функціональних груп фенольних сполук застосовували метод інфрачервоної спектрофотометрії, спектрофотометр Specord 75-IR. ІЧ-спектри аналітичних стандартів виробництва фірми Sigma-Aldrich (фенолкарбонових кислот, фенолів, хінонів) і сухих екстрактів лікарських рослин, виготовлених в роботі, записували після розтирання їх пресування в диски з KBr (кваліфікація х.ч.) при T = 293K [9].

Результати дослідження та їх обговорення.

Для розвитку сфери застосування рослинних витяжок необхідно знати їх хімічний склад та встановити біологічну роль кожного з компонентів витяжки. Попередню оцінку хімічного складу витяжки можна проводити експрес-методом ІЧ-спектрофотометрії, що дозволить звузити коло пошукових об'єктів, визначити сировину багату рослинними поліфенольними сполуками.

Аналізуючи положення смуг спектрів в діапазоні 4000 - 400 см$^{-1}$ (рис. 1, 2) можна припустити, що в складі всіх екстрактів присутні прості феноли та фенолкарбонові кислоти [11], проте, їх кількість різна.

Підтвердженням індивідуального складу витяжки кожної рослини слугують смуги в області: 1625-1600 см$^{-1}$, 1580 см$^{-1}$ і 1520 см$^{-1}$ (υAr (C = C)), 3400-3654 см$^{-1}$ (υOH), (δOH 1330-1375 см$^{-1}$).

Широкі смуги поглинання за 2520-2935 см$^{-1}$, які відносяться до асиметричних коливань і смуга за 2300 см$^{-1}$ вказує на карбоксильні групи, а смуги при 1716-1680 см$^{-1}$ відносяться до коливань зв'язків C = O, головним чином складноефірних груп.

У спектрах всіх екстрактів в області 3400 см$^{-1}$ спостерігаються широкі смуги поглинання високої інтенсивності, які відносяться до частот асоційованих зв'язків O-H, що пояснюється участю фенолів у створенні водневих зв'язків, смуги за 3606-3622 см$^{-1}$ (υOH) обумовлені вільними гідроксилами, а за 3626-3654 см$^{-1}$ (υOH) – просторово-екранованими [12, 13].

Відповідно до висоти ідентифікованих піків уміст фенольних

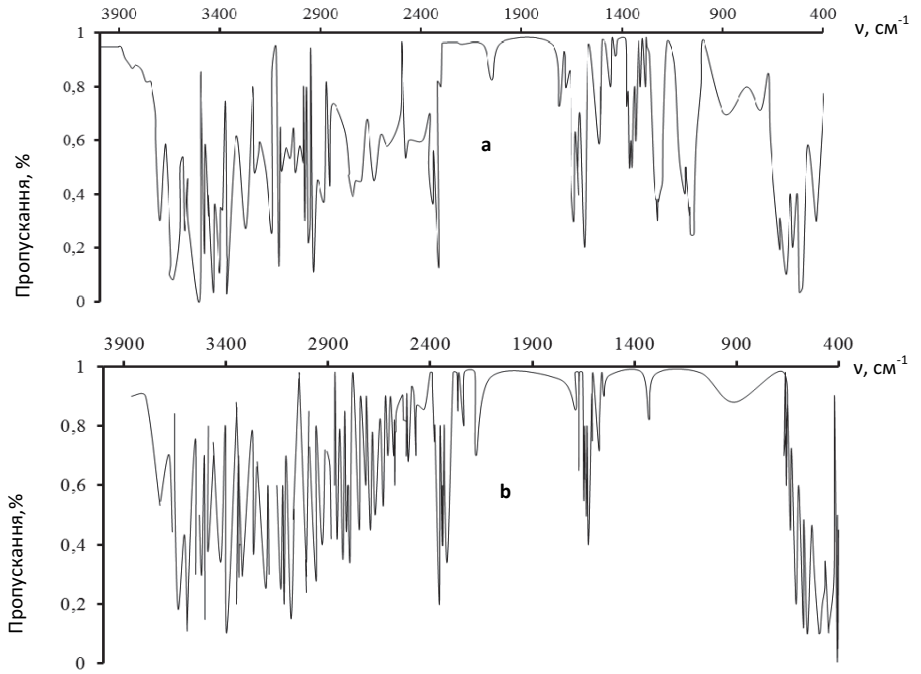

Рис. 1. ІЧ-спектри сухих рослинних витяжок: a – листя мучниці, b – кори дубу. Спектрофотометр Specord 75-IR, диски KBr.

сполук в екстрактах знижується в наступному порядку: листя мучниці (Arctostaphylos Uva-ursi) > кори дуба (Quercus cortex) > кори калини (Cortex Viburni) > кореневища з коренями оману (Inulae Rhizomata Et Radices) > кореневище і корінь родовика (Rhizoma et radix Sanguisorbae). Наявність широких і сильних смуг поглинання в області 2800-3000 см$^{-1}$ (υC-H метильних і метиленових груп) у спектрах екстрактів кори й коренів вивчених рослин говорить про присутність в їх складі суміші таких речовин, як: вуглеводи, пектинові речовини, клітковина.

Екстракт із листя мучниці практично не містить вуглеводів і клітко-

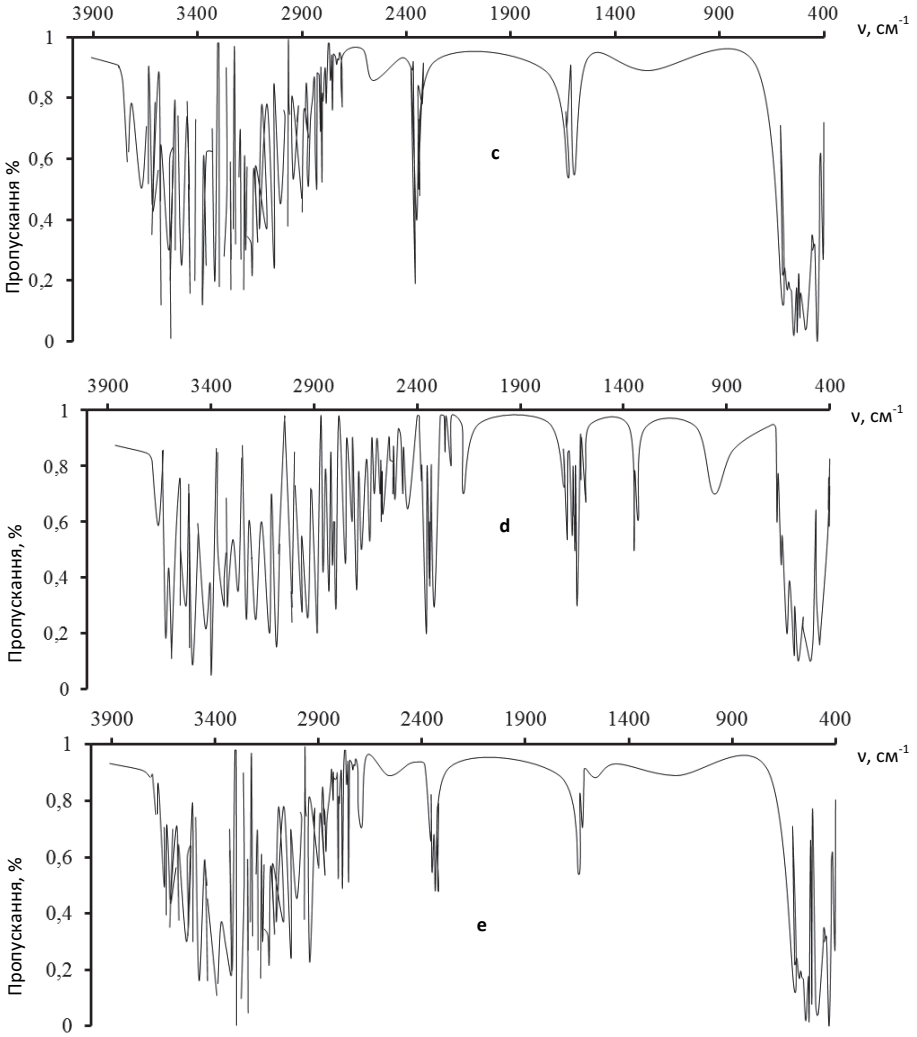

Рис. 2. ІЧ-спектри сухих рослинних витяжок: с– кори калини, d- кореневища з коренями оману, е - кореневище і корінь родовика. Спектрофотометр Specord 75-IR, диски KBr.

вини, смуги поглинання 2950 $см^{-1}$ та 2880 $см^{-1}$ викликані деформаційними коливаннями метоксільних груп фенолкарбонових кислот, що згідно літературних даних представлені в сировині, а саме: бузкової та ванілінової, а також похідними флавоноїдів. У складі екстрактів кори та листя лікарських рослин виявлені ефіри як фенолкарбонових, так і оксікорічних кислот, в екстрактах коренів – глікозиди та ефіри (1500 $см^{-1}$ 1140-1000 $см^{-1}$ υC-O-C, υC=C-O-C) . Смуги в області 1600-1700 $см^{-1}$ характерні для карбоксильних груп γ-піронового циклу флавоноїдів і хинонов.

Висновки та перспективи.

Таким чином, у роботі встановлено, що отримані ІЧ-спектри рослинних витяжок містять характеристичні смуги, що показують наявність гідроксильних та карбоксильних функціональних груп у молекулах різних хімічних речовин природного походження. Метод ІЧ-спектрофотометрії досить простий за інструментальним виконанням та достатньо інформативний, його можна застосовувати для експрес-аналізування сумарної кількості рослинних поліфенолів у складі рослинних витяжок. Відомості щодо загальної кількості поліфенолів у складі витяжки будуть корисні дослідникам, які проводять пошук рослин, вивчають їх біологічну дію та дію отриманих витяжок за різних умов екстрагування.

References.

1. Nesterova L. O., Hrybova N. Y., Khyzhan O. I., Ushkalov V. O. (2018). Development of controls method for the isomers of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. Scientific Journal of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Series: Agronomy, 286, 312-320.
2. Hrybova N. Yu. (2018). Xenobiotics of PAHs group is extracted from sunflower seeds. Scientific Journal of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Series: Agronomy, 294, 209-218.
3. EN 15662:2008. Foods of plant origin. Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE. QuEChERS-method.
4. Parzonko A., Kiss A.K. (2018). Caffeic acid derivatives isolated from Galinsoga parviflora herb protected human dermal fibroblasts from UVA-radiation. Phytomedicine, 57 (17), 215-222.
5. Saetan P., Usawakesmanee W., Siripongvutikorn S., Yupanqui C. T. (2017). Reduction of safrole content of Cinnamomum porrectum leaves by blanching and the effect on the antioxidant and anti-inflammatory activities of its herbal tea. Functional Foods in Health & Disease, 7 (12), 936-957.
6. Perez Gutierrez R. M., Ramirez A.M., Garcia Campoy A.H., Mota Flores J.M., Flores S.O. (2018). Polyphenols of leaves of Apium graveolens inhibit in vitro protein glycation and protect RINm5F cells against methylglyoxal-induced cytotoxicity, 8 (3), 193-211.
7. Nishimura M., Ohkawara T., Nakagawa T., Muro T., Sato Y., Satoh H.,

Kobori M., Nishihira J. (2017) A randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluating the effects of quercetin-rich onion on cognitive function in elderly subjects. Functional Foods in Health & Disease, 7 (6), 353-374.

8. Yanai H. (2017) Anti-atherosclerotic effects of tomatoes. Functional Foods in Health & Disease, 7 (6), 411-428.
9. Nakanisi K. (1965) Infrared spectra and the structure of organic compounds. A practical guide. Moskow: Mir, 216
10. Gribova N. Yu., Filippenko T. A. , Nikolaevskii A. N. , Khizhan E. I. , Bobyleva O. V. (2008) Ef-

fects of ultrasound on the extraction of antioxidants from bearberry (Arctostaphylos adans) leaves. Pharmaceutical Chemistry Journal, 42 (10), 593-595.
11. Smith A. (1982) Applied IR-spectroscopy. Moskow: Mir, 328.
12. Wright J. S., Johnson E. R., Dilabio G. A. (2001) Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. J. Am. Chem. Soc., 123 (6), 1173-1183.
13. Kovalev I.P., Titov E. V. (1966) Infrared absorption spectra of some groups of natural compounds. Kharkov: KSU, 206.

N.Y. Hrybova (2019). POLYPHENOLS CONTENT DETERMINATION IN HERBALS EXTRACTS. *BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 5-12. http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13076*

Abstract. *Some plants products are a valuable source biologically active substances (BAS), their using on the ordinary diet allows for preventive and therapeutic action in various deseases pathological conditions of the body. Researchers interesting polyphenolic antioxidants among BAS. The method of infrared spectrophotometry (IR-spectroscopy) was applied to detect polyphenols in bark, roots and leaves plants extracts, polyphenolic compounds functional groups were identified: hydroxyl (-OH) and carboxyl (-COOH), the content of which in molecules of various chemical substances transmitted by identical absorption bands. In the spectra of vegetable extracts of oak bark and viburnum, bearberry leaves in the region of 3400 cm-1, there are wide absorption bands of high intensity, which are related to the frequencies of associated OH bonds, the bands at 3606–3622 cm-1 (υOH) are due to free hydroxyls, and at 3626-3654 cm-1 (υOH) – spatially shielded. In the composition of extracts of bark and leaves of medicinal plants, ethers of phenol carbonic and hydroxycinnamic acids (1500 cm-1 1140-1000 cm-1 υC-O-C, υC = C-O-C) are found. The bands in the region of 1600-1700 cm-1 are characteristic of the carboxyl groups of γ-pyrons of the flavonoid cycle and quinone. According to the heights of the identified peaks, the content of phenolic compounds in the extracts is reduced in the following order: extracts of bearberry leaves (Arctostaphylos Uva-ursi) > Oak bark (Quercus cortex) > Viburnum bark (Cortex Viburni) > Devyasela roots (Inulae Rhizomata Et Radices) > Krovochlabky roots (Rhizoma et radix Sanguisorbae).*

Keywords: *herbals extracts, polyphenols compounds, laboratory control, infrared spectrophotometry*

Н. Ю. Грибова (2019). ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЫТЯЖКАХ. *BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 5-12. http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13076*

Аннотация. *Продукты питания растительного происхождения и лекарственные растения являються ценным источником биологически активных веществ (БАВ), их употребление в пищевом рационе позволяет осуществлять профилактическое и лечебное действие при различных патологических состояниях организма. Среди БАР исследователи выделяют полифенольные антиоксиданты. В роботе приготовлены растительные вытяжки из высушенного материала: корней, коры и листьев растений,*

которые применяются в лечебной практике. Методом инфракрасной спектрофотометрии (ИК-спектроскопии) по функциональным группам: гидроксильным (-ОН) и карбоксильным (-СООН) проведена структурно-групповая оценка содержания полифенолов в растительных вытяжках. В спектрах растительных вытяжек коры дуба и калины, листьев толокнянки в области 3400 см$^{-1}$ наблюдаются широкие полосы поглощения высокой интенсивности, которые относятся к частотам ассоциированных связей О-Н, полосы при 3606 - 3622 см$^{-1}$ (υОН) обусловлены свободными гидроксилами, а при 3626-3654 см$^{-1}$ (υОН) - пространственно-экранированными гидроксилами, в наибольшем количестве выявлены в спектрах листьев толокнянки. В составе экстрактов коры и листьев лекарственных растений обнаружены эфиры фенолкарбоновых и оксикоричних кислот (1500 см$^{-1}$ 1140-1000 см$^{-1}$ υС-О-С, υС=С-О-С), при этом названные полосы поглощения характеризуються значительно меньшей интенсивностью в спектрах вытяжек листьев толокнянки. Полосы в области 1600-1700 см$^{-1}$ характерные для карбоксильных групп γ-пиронов цикла флавоноидов и хинон. Согласно интенсивностей идентифицированных пиков, суммарное содержание фенольных соединений в вытяжках снижается в следующем порядке экстракты: листьев толокнянки(Arctostaphylos Uva-ursi) > коры дуба (Quercus cortex) > коры калины (Cortex Viburni) > кореневища и корней девясила (Inulae Rhizomata Et Radices) > кореневища и корней кровохлебки (Rhizoma et radix Sanguisorbae).

Ключевые слова. *растительные вытяжки, полифенольные соединения, лабораторный контроль, инфракрасная спектрофотометрия*