

УДК 573.6:[581.6:582.711]

UDC 573.6:[581.6:582.711]

## СОЗДАНИЕ ТИЗАНОВ НА ОСНОВЕ *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM. И ИХ АМПЕРОМЕТРИЯ

## CREATING TISANES ON THE BASE OF *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM AND THEIR AMPEROMETRY

**А. В. Башилов,**

*кандидат биологических наук, старший  
научный сотрудник лаборатории  
прикладной биохимии ГНУ «Центральный  
ботанический сад НАН Беларуси»*

**A. Bashilov,**

*Candidate of Biology, Senior Researcher  
of the laboratory of applied biochemistry of  
SSI “Central Botanical Garden of NAS  
of Belarus”*

Поступила в редакцию 16.07.15.

Received on 16.07.15.

Разработаны рецептуры двух тизанов на основе *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., позволяющие расширить ассортимент чайных напитков на основе растительного сырья Республики Беларусь. Проведен скрининг антиоксидантной активности тизанов и их растительных составляющих амперометрическим методом на приборе «Цвет Яуза 01-AAA». Установлено, что суммарная антиоксидантная активность растительных компонентов не является аддитивной величиной, а некоторые их сочетания обладают выраженным синергетико-антагонистическим взаимодействием.

*Ключевые слова:* таволга вязолистная, пятилистник кустарниковый, мята перечная, антиоксидантная активность.

Two tisanes have been developed on the basis of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. Screening of antioxidant activity tisanes and plant components has been led with the help of amperometric method.

*Keywords:* *F. ulmaria*, *P. fruticosa*, *M. piperita*, antioxidant activity.

Одной из главных причин патологических изменений в клетках является высокая концентрация в биологических жидкостях свободных радикалов, главным образом кислорода (например, супероксид-анион, гидроксильный, пергидроксильный радикал и др.). Повышенная активность последних создает условия для развития оксидантного стресса, выражающегося в окислительной деструкции биомолекул. Радикалы особенно активно взаимодействуют с липидами биомембран, содержащими остатки ненасыщенных жирных кислот, и тем самым нарушают их функционирование [1, с. 235; 2, с. 71].

Негативное воздействие радикальных частиц предотвращает антиоксидантная система, главными компонентами которой являются антиоксиданты – вещества, способные нейтрализовать радикалы, то есть проявлять антиоксидантную активность (далее – АОА). Оксидантный стресс можно уменьшить за счет регулярного употребления некоторых пищевых продуктов, лекарственных препаратов, содержащих антиоксиданты.

Проблема химической регуляции окислительного стресса и поиск биологически активных веществ, обладающих АОА, находятся

в центре внимания многих исследователей. Среди природных источников антиоксидантов следует выделить растения, содержащие флавоноиды – соединения с выраженной АОА. Актуальным является использование растительных композиций (например, тизаны), обладающих заранее заданным антиоксидантным составом и органолептическими свойствами.

В основе методов определения АОА чаще всего лежат принципы прямого или косвенного измерения скорости или полноты реакции антиоксидантов с реагентами-окислителями [1, с. 235; 2, с. 71; 3, с. 177]. Для количественного определения антиоксидантов одним из надежных методов является амперометрия. Метод основан на измерении силы электрического тока, возникающего при электрохимическом окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности электрода. В условиях амперометрического детектирования хорошо окисляются соединения, содержащие гидроксильные группы (например, флавоноиды), предел обнаружения которых лежит в интервале  $10^{-12}$  –  $10^{-9}$  г [4].

Цель работы – создание малокомпонентных тизанов и амперометрическое исследование их АОА<sup>1</sup>.

### Материалы и методы исследования.

**Объекты исследования:** соцветия *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. (таволга вязолистная), трава *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz (пятилистник кустарниковый) и *Mentha piperita* L. (мята перечная)<sup>2</sup>.

**Создание тизанов:**

- сбор и первичная обработка растительного сырья: сушка (воздушно-теневым способом), приведение в стандартное состояние, измельчение, упаковка, хранение, отбор средней пробы;
- подбор соотношения растительных компонентов. Базовый компонент – *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., дополнительные: *Mentha piperita* L. и *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz.

**Определение АОА.** Приготовление экстрактов: к 0,1 г воздушно-сухого растительного сырья добавляли 30 мл бидистиллята при температуре 100 °С. Экстракцию проводили в течение 30 мин на магнитной мешалке. Доводили до 50 мл и фильтровали.

Исследование АОА проводили с помощью амперометрического детектирования на приборе «ЦветЯуза-01-АА»<sup>3</sup> и показатели выражали в пересчете на суммарное содержание антиоксидантов в исследуемых образцах, мг/г. «ЦветЯуза-01-АА» представляет собой электрохимическую ячейку с разностью потенциалов 1,3 В. Регистрировали изменение силы тока, протекающей через электрохимическую ячейку, обусловленное изменением концентрации антиоксидантов. Сигнал регистрировали в виде дифференциальных выходных кривых. С помощью программного обеспечения для «ЦветЯуза-01-АА» производили расчет площадей пиков анализируемого и стандартного вещества – кверцетина.

<sup>1</sup> НИР соответствует Перечню приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011–2015 гг., а именно: «3.1 биохимия, биофизика и физиология растительной, животной и микробной клетки, ее надмолекулярных структур, биологических макромолекул и низкомолекулярных биорегуляторов, в том числе ферментов и гормонов». Постановление Совета Министров Республики Беларусь № 1196 от 12 августа 2010 г.

<sup>2</sup> Растения культивировались в коллекционном питомнике Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Сырье заготовлено в фазу цветения, 2012 г.

<sup>3</sup> Прибор разработан НПО «Химвтоматика» (www.chimavtomatika.ru), Российская Федерация.

За результат принимали среднее арифметическое значение из пяти измерений (относительное среднее квадратичное отклонение не более 5 %). Строили градуировочную характеристику в соответствии с уравнением:

$$y = ax + b,$$

где  $x$  – концентрация кверцетина, мг/л;

$y$  – площадь пика (сигнал кверцетина) [4; 5].

В нашем случае:

$$y = 994,8x + 367,3,$$

при  $R^2 = 0,998$ .

**Результаты и их обсуждение.** **Создание тизанов:** разработаны рецептуры двух тизанов с рабочими названиями: Т I и Т II, следующие по составу (соотношение воздушно-сухого растительного сырья по массе):

Т I: *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Mentha piperita* L., *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz 1:1:1;

Т II: *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz 1:1.

Подобранные соотношения компонентов обеспечивают тизанам после их заваривания определенные, присущие только этим составам потребительские свойства (таблица 1). Тизаны, как и обычные чайные напитки, обладают тонизирующим действием, а также проявляют антиоксидантный, противовоспалительный и антиульцерогенный эффект за счет влияния всех компонентов, входящих в их состав.

**Таблица 1 – Органолептические свойства тизанов<sup>4</sup>**

Тизан	Состав	Органолептические свойства		
		цвет	вкус	аромат
Т I	<i>F. ulmaria</i> , <i>M. piperita</i> , <i>P. fruticosa</i> 1:1:1	насыщенный янтарно-желтый	прохладный с терпким послевкусием	медовый с мятным оттенком
Т II	<i>F. ulmaria</i> , <i>P. fruticosa</i> 1:1	янтарно-желтый	терпкий	насыщенный медовый

Базовым компонентом в составе тизанов являются соцветия *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. Растительный материал содержит эфирные масла, флаваноиды, танины, салицилаты. В медицине используется как противовоспалительное, антиульцерогенное и антиоксидантное средство. *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. придает композициям

<sup>4</sup> Органолептические свойства тизанов могут меняться (например, насыщенность вкуса и цвета) в зависимости от соотношения массы тизана и воды.

медовый аромат и янтарный цвет. Второй компонент – *Mentha piperita* L. – существенно влияющий на потребительские свойства, благодаря содержанию эфирных масел, главным образом ментола, обеспечивает прохладный, освежающий вкус. Применяется как противовоспалительное, антибактериальное и вазодилаторное средство. *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz. проявляет: противовоспалительную и антиоксидантную активность. Придает композициям терпкое послевкусие.

Тизаны получают простым смешиванием в нужном весовом соотношении ранее высушенного и измельченного растительного материала. Заваривают в кипящей воде, выдерживают несколько минут и пьют в горячем или охлажденном виде.

Преимущества предложенных тизанов по сравнению с существующими аналогами: 1) малокомпонентность: снижает количество дефицитного растительного сырья; 2) экономическая доступность за счет сырьевой базы основного компонента – *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.; 3) отличные от существующих аналогов органолептические свойства.

**Скрининг АОА:** в ходе электрохимического процесса на электродах происходит окисление преимущественно гидроксильных групп антиоксидантов фенольного типа. Данный тип окисления может быть использован как модельный при измерении активности поглощения свободных радикалов в соответствии со следующими уравнениями:

- окисление при максимальном потенциале: флавоноид–ОН → флавоноид–О• + e<sup>-</sup> + H<sup>+</sup>;
- улавливание свободным радикалом: флавоноид–ОН → флавоноид–О• + H•.

Обе реакции включают разрыв связи в гидроксильной группе. В этом случае способность к захвату свободных радикалов флавоноидами или другими полифенолами может измеряться величиной окисляемости этих соединений на рабочем электроде амперометрического детектора.

Установлено, что изученные образцы обладают разной степенью АОА. В таблице 2 представлены результаты амперометрического исследования АОА тизанов и их растительных составляющих. Показано, что в зависимости от значения параметра АОА образцы можно условно разделить на три группы. К первой относятся Т I и *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz. Они достоверно не отличаются между собой по показателю АОА, среднее его значение составило 82,3 ± 2,25 мг/г, что на 10 % превышает соот-

ветствующий показатель для *Mentha piperita* L. и почти в два раза выше для Т II и *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. Можно предположить, что это обусловлено более высоким содержанием гидрофильных антиоксидантов (например, некоторых классов фенольных соединений, аскорбиновой кислоты и др.) у представителей первой группы по сравнению с остальными образцами.

**Таблица 2 – АОА тизанов и их компонентов, мг/г**

Образец	АОА
Тизан I	82,5 ± 3,0
<i>Pentaphylloides fruticosa</i> (L.) O. Schwarz	82,0 ± 1,5
<i>Mentha piperita</i> L.	74,7 ± 4,1
Тизан II	48,6 ± 0,7
<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.	47,6 ± 0,5

Ко второй группе относится *Mentha piperita* L., АОА для нее составляет 74,7 ± 4,1 мг/г. К третьей – Т II и *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., показатель АОА между обоими образцами достоверно не отличается и в среднем равен 48,1 ± 0,6 мг/г. Снижение АОА можно объяснить отсутствием в составе тизана *Mentha piperita* L. со средним уровнем АОА.

Полученная разница между тремя выделенными группами объясняется различным компонентным составом. Так, Т I является трехкомпонентным (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Mentha piperita* L., *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz 1:1:1), Т II – двухкомпонентным (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. – *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz 1:1). В обоих тизанах наблюдается синергетико-антагонистическое взаимодействие растительных составляющих в проявлении АОА. В образце Т I регистрировали синергизм растительных составляющих в проявлении АОА, что привело к увеличению АОА тизана по сравнению с АОА отдельных растительных компонентов. Так, среднее для трех составляющих Т I было на уровне 68,1 ± 2,0 мг/г<sup>1</sup>, в то время как экспериментально – 82,5 ± 3,0 мг/г, что на 21,2 % выше.

При изучении АОА Т II, напротив, наблюдался антагонизм: АОА Т II равная 48,6 ± 0,7 мг/г ниже на 33,3 % среднего арифметического отдельных растительных составляющих тизана – 64,8 ± 0,1 мг/г<sup>2</sup>. Полу-

<sup>1</sup> Среднее арифметическое для АОА *P. fruticosa*, *M. Piperita*, *F. ulmaria* (таблица 2).

<sup>2</sup> Среднее арифметическое для АОА *P. fruticosa*, *F. ulmaria* (таблица 2).

ченые данные свидетельствуют, что суммарное значение АОА растительных компонентов в составе композиций не является аддитивной величиной, а может изменяться в зависимости от состава.

Таким образом, способность к захвату свободных радикалов флавоноидами или другими полифенолами растительного происхождения, а значит и АОА, может измеряться величиной окисляемости этих соединений на электроде и быть амперометрически детектируемой.

**Заключение.** Разработаны рецептуры двух тизанов на основе *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., позволяющие расширить ассортимент чайных напитков на основе растительного сырья Республики Беларусь. Тизаны получают простым перемешиванием воздушно-сухих растительных компонентов в нужном весовом соотношении. Заваривают в кипящей воде, выдерживают несколько минут и пьют в горячем или охлажденном виде.

Проведен скрининг АОА двух тизанов и их растительных составляющих амперометрическим методом на приборе «Цвет Яуза 01-ААА». Изученные образцы обладают различной АОА. В зависимости от ее значения их можно условно разделить на три группы. К первой относятся Т I и *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz – достоверно не отличаются между собой по показателю АОА, среднее его значение из всех изученных об-

разцов было максимальным и составило  $82,3 \pm 2,3$  мг/г. Ко второй группе относится – *Mentha piperita* L., параметр АОА для нее составил  $74,7 \pm 4,1$  мг/г. К третьей – Т II и *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., параметр АОА между обоими образцами достоверно не отличался и составил в среднем  $48,1 \pm 0,6$  мг/г – самый низкий среди изученных образцов.

Таким образом, результатом амперометрического анализа явился параметр АОА индивидуальных растительных компонентов и тизанов на их основе. Установлено, что суммарная АОА компонентов не является аддитивной величиной, а некоторые их сочетания обладают выраженным синергетико-антагонистическим взаимодействием.

Дальнейшее направление работы в области амперометрического анализа АОА может быть сосредоточено на исследовании связи сигнала детектора со строением анализируемых молекул полифенолов, в частности с числом гидроксильных групп в бензольных кольцах, их взаимного влияния, экранировки неактивными атомными группировками и т. д.

*Автор выражает благодарность за помощь в выполнении работы коллегам из Балтийского федерального университета имени И. Канта, а именно доктору биологических наук, профессору Г. Н. Чупахиной и научному сотруднику П. В. Федуряеву.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Roginsky, V., Lissi, E. A. // Food Chemistry. – 2005. – V. 92. – P. 235.
2. Perez, D. D. // Biol. Research. – 2000. – V. 33. – P. 71.
3. Schleisier, K., Harwat, M., Böhm, V., Bitsch, R. // Free Radical Research. – 2002. – V. 36. – P. 177.
4. Яшин, А. Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках / А. Я. Яшин // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). – 2008. – Т. LII – № 2.
5. Свидетельство № 31-07. Методика выполнения измерений содержания антиоксидантов в напитках и пищевых продуктах, биологически активных добавках, экстрактах лекарственных растений амперометрическим методом, разработанная ОАО НПО «Химавтоматика» / Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы». Дата выдачи 4 мая 2007 г.

#### REFERENCES

1. Roginsky, V., Lissi, E. A. // Food Chemistry. – 2005. – V. 92. – P. 235.
2. Perez, D. D. // Biol. Research. – 2000. – V. 33. – P. 71.
3. Schleisier, K., Harwat, M., Böhm, V., Bitsch, R. // Free Radical Research. – 2002. – V. 36. – P. 177.
4. Yashin, A. Ya. Inzhektionsionno-protocchnaya sistema s amperometricheskim detektorom dlya selektivnogo opredeleniya antioksidantov v pishchevykh produktakh i napitkakh / A. Ya. Yashin // Ros. khim. zh. (Zh. Ros. khim. ob-va im. D. I. Mendeleeva). – 2008. – T. LII – № 2.
5. Svidetelstvo № 31-07. Metodika vypolneniya izmereniy soderzhaniya antioksidantov v napitkakh i pishchevykh produktakh, biologicheski aktivnykh dobavkakh, ekstrakhtakh lekarstvennykh rasteniy amperometricheskim metodom, razrabotannaya OAO NPO «Khimavtomatika» / Federalnoye gosudarstvennoye unitarnoye predpriyatiye «Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy institute metrologicheskoy sluzhby». Data vydachi 4 maya 2007 g.