

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ПРЯНОЙ ЗЕЛЕНИ

Т. Капканарь

Технический Университет Молдовы

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время широко разрабатываются и внедряются в производство функциональные пищевые продукты, обогащенные биологически активными компонентами [1]. Это новое и перспективное направление в пищевой индустрии разработано специально для улучшения структуры питания и здоровья, а также для профилактики распространенных заболеваний современного человека.

Наиболее распространенным примером функциональной пищи являются обогащенные продукты питания, в состав которых дополнительно введены пищевые волокна, бифидо- и лактобактерии, антиоксиданты, витамины, минеральные вещества (кальций, железо, цинк, фтор, селен и др.), флавоноиды (фитоэстрогены, кверцетины и др.), полиненасыщенные жирные кислоты. [12]

Известно, что пищевая и биологическая ценность пряной зелени обусловлена высоким содержанием в ней витаминов, минералов, солей и других биологически ценных пищевых веществ. Данная пряная зелень содержит органические кислоты, сахар, азотистые и безазотистые вещества, является важным источником кальция, железа, фосфора. Кроме того, содержит вкусовые и ароматические вещества, придающие ей специфичный приятный острый вкус и запах [18].

Зелень петрушки и любистка является богатым источником антиоксидантов и полифенолов [6]. Это группа биологически активных соединений, содержащихся в пище и нейтрализующих в организме свободные радикалы — нестабильные атомы и соединения, которые образуются в ходе нормального обмена веществ и присутствуют в окружающей среде, но, накапливаясь сверх меры, становятся опасными [10, 11].

В настоящее время уделяется большое внимание экстракции биологически активных веществ из пищевых продуктов, в частности растительного сырья. В ряде пищевых

производств экстрагирование является одним из основных процессов.

Целью данной работы является изучение влияния содержания полифенолов на проявляемую антиоксидантную активность масляных экстрактов пряной зелени. Определение производится в экстрактах, полученных в масляной среде. Объектами исследования являются петрушка и любисток. Данные продукты выбраны, как источники натуральных антиоксидантов, наиболее распространенных, доступных и употребляемых населением Республики Молдова в пищу в своем повседневном рационе.

II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы

В данной работе были использованы следующие материалы: масло подсолнечное дважды рафинированное и дезодоризированное ГОСТ 1129-93, пряная зелень петрушки SM 211:2000 и любистка РСТ МССР 623-77; химические реактивы: 1,1-дифенил-2-пикрилгидрозил (DPPH), этанол, реактив Фолин-Чокалтеу, карбонат натрия, галловая кислота. Все материалы соответствуют действующей нормативной документации.

2.2. Методология получения экстрактов

Для проведения необходимых исследований были подготовлены масляные экстракты пряной зелени петрушки и любистка. Экстракты — это концентрированные препараты жидкой консистенции, которые получали из высушенного растительного сырья петрушки и любистка различными способами. Сырье подвергали сушке конвективной и СВЧ при различных режимах. В конвективной сушке при температурах 60°C и 80°C. В СВЧ сушке при 50% и 100% силе магнетрона. Затем высушенное сырье измельчали до состояния

порошка. Навеску массой 3 г смешивали с маслом подсолнечным и подвергали термической обработке на водяной бане при 60 °С в течении 2 часов в темном месте.

2.3. Определение общего содержания полифенолов экстрактах в пряной зелени [9]

Общее содержание полифенолов в масляных экстрактах пряной зелени определялось при помощи реактива Фолин-Чокалтеу, состоящего из смеси фосфорновольфрамовой $H_3PW_{12}O_{40}$ и фосфорномолибденовой $H_3PMo_{12}O_{40}$ кислот. Галловая кислота в данном исследовании применяется для построения калибровочного графика. Данный опыт измеряет общее содержание фенольных веществ, находящихся в продукте, не разделяя их на галловую кислоту, мономеры, димеры и высшие фенольные соединения. Для проведения анализа берется 0,5 мл, соединяется с 10 мл дистиллированной воды, добавляется 0,5 мл реактива Фолин-Чокалтеу. Смесь перемешивается и выдерживается в течение 5 минут. Затем к смеси добавляется 8 мл карбоната натрия Na_2CO_3 , смесь вновь перемешивается и выдерживается в темноте в течение 2 часов. По истечении 2 часов исследуемые образцы подвергаются анализу в спектрофотометре. Величина абсорбции снимается однократно для каждого образца при рабочей длине волны $\lambda = 765$ нм.

2.3. Методология определения антиоксидантной активности полифенолов методом DPPH [9]

Данный метод базируется на использовании стабильных свободных радикалов дифенилпикрилгидразила. DPPH - стабильный свободный радикал (молекула 1,1-дифенил-2-пикрил-гидрозила) образованный благодаря делокализации свободных электронов вокруг всей молекулы, таким образом, что молекула не димеризуется. Делокализация также приводит к образованию интенсивного фиолетового цвета, поглощающего спектр при длине волны 515 нм.

Когда раствор DPPH реагирует с анализируемым веществом, которое может отдать атом водорода, происходит обесцвечивание раствора. В результате этого

образуется восстановленная форма свободного радикала.

2.4. Статистическая обработка результатов [2, 3]

Достоверность экспериментальных данных оценивали методами математической статистики с нахождением среднего интервального значения из трех параллельных опытов при доверительной вероятности 95% на основании следующих расчетов:

Статистическая обработка полученных данных была осуществлена при помощи программы Microsoft Office Excel 2007.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Характеристика и содержание полифенолов пряной зелени

Полифенолы обладают большими антиоксидантными свойствами, чем витамины и стали объектом растущего интереса со стороны диетологов, эпидемиологов [19]. Их главным преимуществом является то, что они защищают от многих заболеваний, помогают бороться с образованием свободных радикалов в организме человека. [7]

Петрушка и любисток являются богатыми источниками полифенолов, в частности флавоноидов. Помимо этого в любистке содержатся фенолокислоты. Содержание полифенолов в пряной зелени представлено в таблице 1.

Таблица 1. Содержание полифенолов в петрушке и любистке [8].

Название полифенола	Петрушка	Любисток
	Флавоноиды	
Апигенин	302,00	следы*
Лютеолин	1,24	следы
Кемпферол	0,44	7,00
Кверцетин	0,33	170,00
Гесперетин	следы	следы
Мирецитин	8,08	-
	Фенолокислоты	
Хлорогеновая кислота	-	1,362
Кофейная кислота	-	2,121

* ниже определяющего лимита (<0,05 мг/100 г)

Известно, что чем больше гидроксильных групп в молекуле полифенола, тем лучше он проявляет антиоксидантные свойства [19]. Антиоксидантные свойства наиболее ярко выражены у гесперитина, так как в его состав входит 8 гидроксильных групп. Менее ярко выражены антиоксидантные свойства у кофейной кислоты, в состав которой входит только две гидроксильные группы. [10-16].

3.2. Изучение определения общего содержания полифенолов в пряной зелени (петрушке и любистке)

В данной работе для определения общего содержания полифенолов в пряной зелени был построен калибровочный график по галловой кислоте, взятой в качестве стандартного раствора с концентрацией от 0,002 до 0,0002 г/мл.

Результаты были выражены в мг галлового эквивалента на мл экстракта. Данный график отображен на рисунке 1.

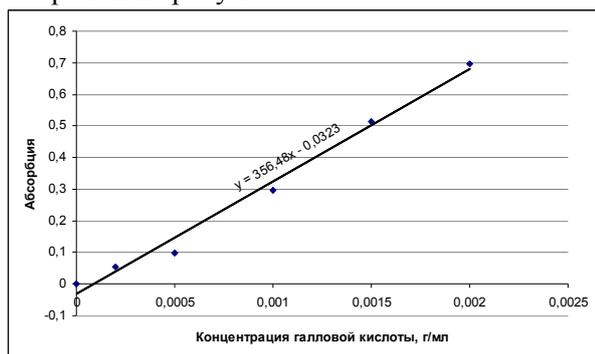


Рис. 1. Калибровочный график по галловой кислоте.

В соответствии с построенным калибровочным графиком по галловой кислоте было определено общее содержание полифенолов в исследуемых экстрактах.

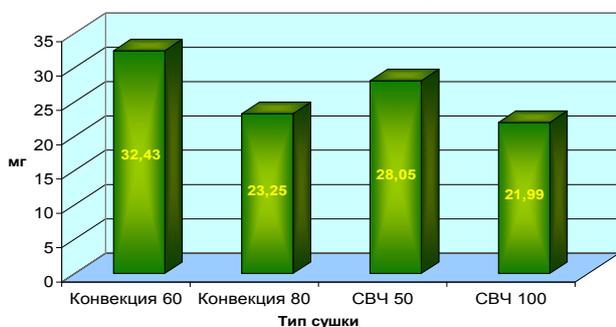


Рис. 2. Общее содержание полифенолов в экстрактах петрушки в зависимости от типа сушки.

Из приведенной диаграммы можно сделать вывод, что из двух конвективных сушек

полифенолов наибольшая сохранность полифенолов характерна для экстрактов петрушки, которая подвергалась сушке при температуре 60°C.

Если сравнивать два режима СВЧ сушки, то полифенолов больше в экстракте петрушки, которая сушилась при 50% силе магнетрона.

Можно отметить, что конвективная сушка при 60°C и СВЧ сушка при 50% силе мало отличаются по количеству содержания полифенолов в экстрактах петрушки, кроме того при СВЧ сушке хорошо сохраняются органолептические показатели сушеной зелени. Она является более выгодной для масштабного производства.

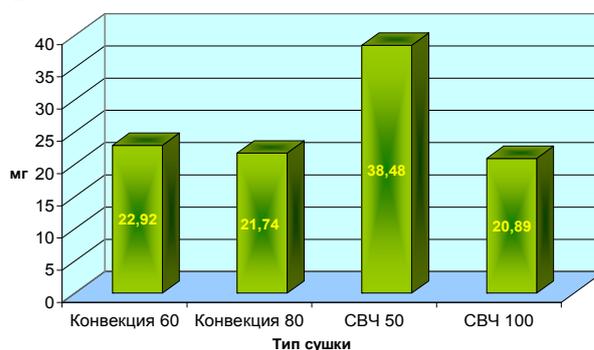


Рис. 3. Общее содержание полифенолов в экстрактах любистка в зависимости от типа сушки.

Из приведенной диаграммы можно сделать вывод, что в экстракте любистка при разных режимах конвективной сушки (при 60°C и при 80°C) полифенолов сохранилось приблизительно одинаковое количество.

Если сравнивать два режима СВЧ сушки, то по сравнению с сушкой при 100% силе магнетрона, при более щадящем режиме сушки, т.е. при 50% силе магнетрона полифенолов сохранилось на 18 мг больше.

Из приведенной диаграммы видно, что для любистка наилучшим режимом сушки, при которой сохраняется наибольшее количество полифенолов, является СВЧ.

3.3. Изучение кривых антиоксидантной активности исследуемых экстрактов методом DPPH

Данные для построения кривых антиоксидантной активности снимались на спектрофотометре, через каждую минуту в течение 30 минут.

После смешивания реактива DPPH с исследуемым экстрактом происходило обесцвечивание раствора DPPH.

Так как общее содержание полифенолов в масляных экстрактах петрушки и любистка невелико, то из приведенных ниже графиков видно, что кривая антиоксидантной активности представляет собой гиперболу (рисунки 4-11).

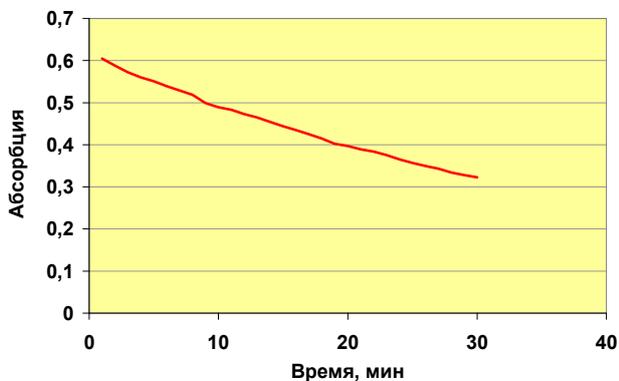


Рис. 4. Кривая антиоксидантной активности экстракта петрушки при конвективной сушке 60°C

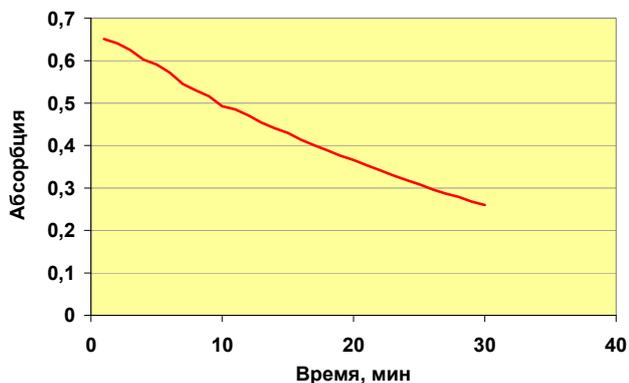


Рис. 5. Кривая антиоксидантной активности экстракта петрушки при конвективной сушке 80°C

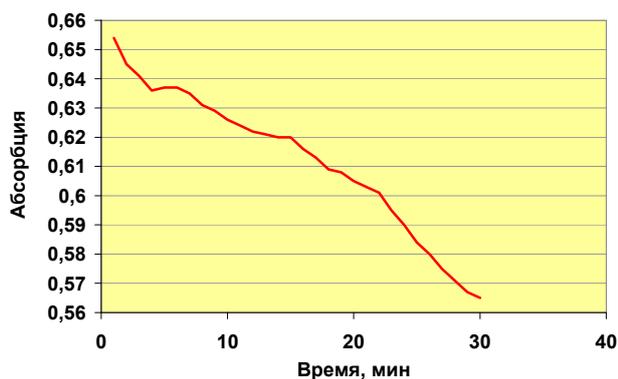


Рис. 6. Кривая антиоксидантной активности экстракта петрушки при СВЧ сушке 50%

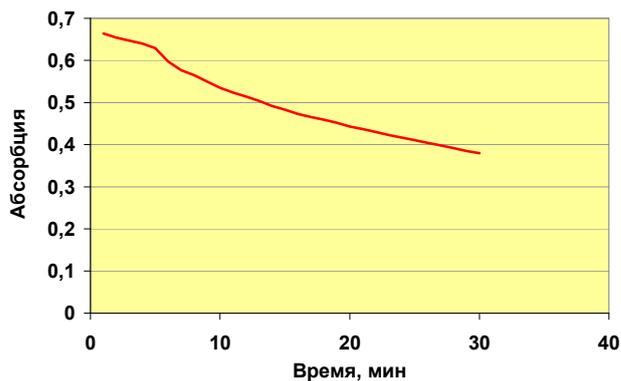


Рис. 7. Кривая антиоксидантной активности экстракта петрушки при СВЧ сушке 100%

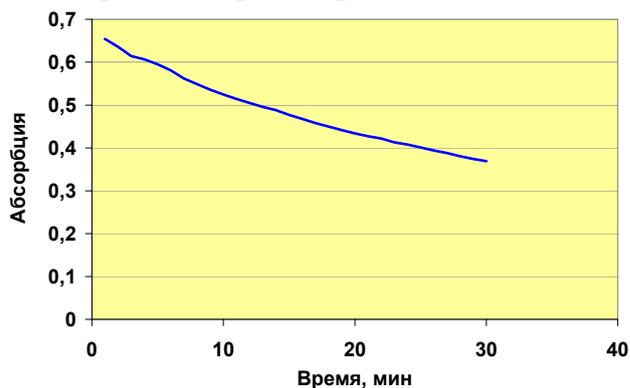


Рис. 8. Кривая антиоксидантной активности экстракта любистка при конвективной сушке 60°C

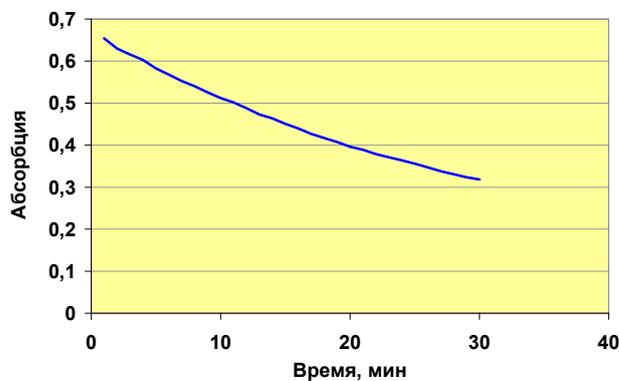


Рис. 9. Кривая антиоксидантной активности экстракта любистка при конвективной сушке 80°C

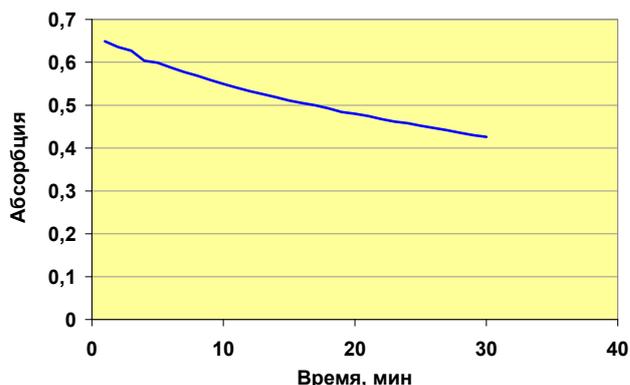


Рис. 10. Кривая антиоксидантной активности экстракта любистка при СВЧ сушке 50%.

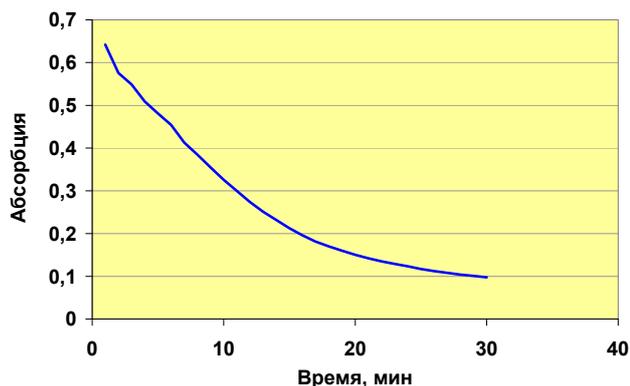


Рис. 11. Кривая антиоксидантной активности экстракта любистка при СВЧ сушке 100%

3.4. Изучение антиоксидантной активности исследуемых экстрактов пряной зелени [9]

В данной работе методом DPPH была определена антиоксидантная активность пряной зелени, а именно петрушки и любистка.

Антиоксидантная активность вычисляется по формуле:

$$RSA\% = \frac{[DPPH]_0 - [DPPH]_t}{[DPPH]_0} \times 100$$

Где $[DPPH]_0$ – концентрация раствора DPPH (без введенного экстракта) при $t=0$

$[DPPH]_t$ – оставшаяся концентрация раствора DPPH после 30 минут исследования.

На основе полученных данных были составлены диаграммы.

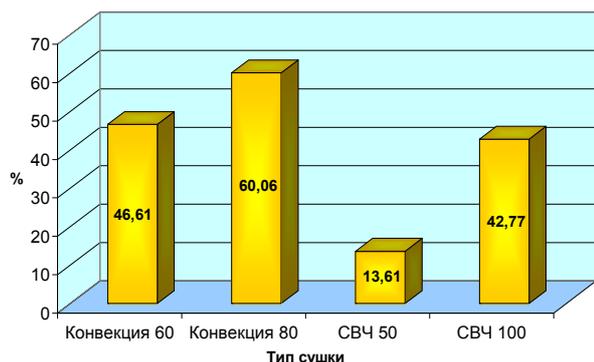


Рис. 12. Антиоксидантная активность экстрактов петрушки.

Из приведенной диаграммы можно сделать вывод что из двух конвективных сушек антиоксидантная активность выше у образца, который сушился при конвективной сушке с температурой 80°C. А из двух сушек СВЧ - выше у образца, который сушился при 100% силе магнетрона.

Сравнивая два режима сушки между собой, можно увидеть, что при конвекции

антиоксидантная активность выше на 17%, однако для производства более выгодным будет считаться режим сушки СВЧ, т.к. он является более быстрым.

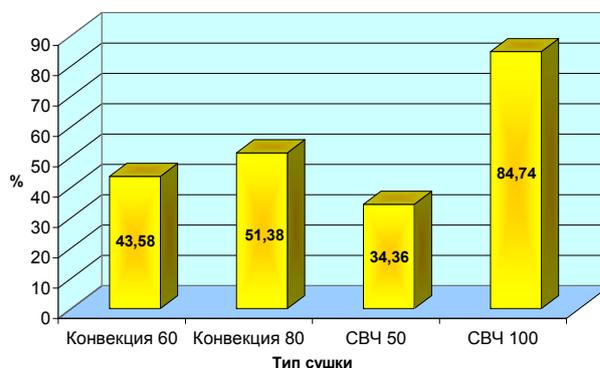


Рис. 13. Антиоксидантная активность экстрактов любистка.

Рассмотрев различные режимы конвективной сушки, можно сделать вывод, что антиоксидантная активность экстрактов любистка выше после конвективной сушки при 80°C, однако это незначительно отличается от конвекции при 60°C. После СВЧ сушки наблюдается высокая антиоксидантная активность в образце, который сушился при 100% силе магнетрона, по сравнению со вторым образцом – больше в два раза.

Сравнивая два режима сушки между собой, можно увидеть, что при СВЧ сушке антиоксидантная активность выше на 33%.

3.5. Изучение влияния общего содержания полифенолов в исследуемых экстрактах на их антиоксидантную активность

Общее содержание полифенолов в анализируемых экстрактах может оказать существенное влияние на их антиоксидантную активность.

Антиоксидантная активность полифенолов может зависеть и от количества гидроксильных групп, которые содержатся в их молекуле. Чем больше в молекуле гидроксильных групп, тем лучше она проявляет антиоксидантные свойства.

Влияние общего содержания полифенолов на их антиоксидантную активность отображено на диаграммах 14, 15. Сравнивая два вида конвективной сушки можно отметить, что антиоксидантная активность экстракта петрушки, значительно выше общего содержания полифенолов. Это в первую очередь может быть связано с наличием в экстракте полифенолов с большим числом гидроксильных

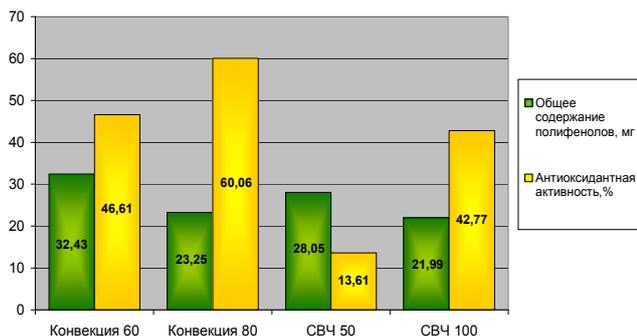


Рис. 14. Влияние общего содержания полифенолов на антиоксидантную активность в экстрактах петрушки.

групп. Из двух сушек СВЧ в сушке при 50%-ной силе магнетрона наблюдается низкая антиоксидантная активность, это можно объяснить наличием в данном экстракте полифенолов с низким числом гидроксильных групп.

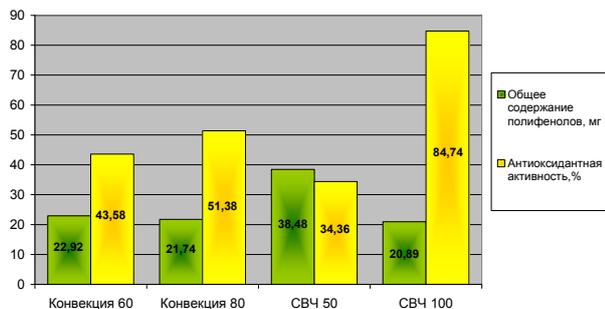


Рис. 3.15. Влияние общего содержания полифенолов на антиоксидантную активность в экстрактах любистка.

Из приведенной диаграммы видно, что антиоксидантная активность при конвективной сушке выше общего содержания полифенолов, это говорит о наличии в экстрактах полифенолов с большим числом гидроксильных групп.

Сравнивая СВЧ сушку, то в сушке при 50%-ной силе магнетрона антиоксидантная активность значительно ниже, чем при СВЧ сушке со 100%-ной силой магнетрона, это можно объяснить наличием в данном экстракте полифенолов с низким числом гидроксильных групп.

ВЫВОДЫ

В настоящее время особую актуальность приобретает создание продуктов питания нового поколения, это связано с недостаточной обеспеченностью населения жизненно важными нутриентами. В их числе - минеральные вещества, аминокислоты, пищевые волокна, флавоноиды и т.д.[17]

В данной работе дана характеристика пряной зелени петрушки и любистка, а также был изучен ее химический состав.

Было выявлено, что пряная зелень является существенным источником антиоксидантов: витаминов и полифенолов, которые оказывают положительное воздействие на организм человека.

Основным предметом исследования являлись полифенолы, которые по своим антиоксидантным свойствам значительно превосходят витамины.

Из исходного высушенного сырья полифенолы экстрагировали в подсолнечное масло. Полученные подобным образом экстракты добавляют в продукты питания с целью улучшения их биологической ценности.

В работе была изучена методика определения общего содержания полифенолов в пряной зелени при помощи реактива Folin-Ciocalteu, а также антиоксидантная активность экстрактов, которую измеряли методом DPPH.

По полученным в итоге данным можно сделать вывод, что общее содержание полифенолов может оказать существенное влияние на антиоксидантную активность. Наивысшая антиоксидантная активность в экстракте из зелени петрушки наблюдается при конвективной сушке при 80°C, она достигает 60,06%. В экстракте из зелени любистка наивысшая антиоксидантная активность наблюдается при СВЧ сушке при 100% силе магнетрона, она достигает 84,74%. Однако следует отметить, что общее содержание полифенолов в данных экстрактах невелико, в экстрактах петрушки составляет 23,25 мг, а в экстракте любистка 20,89мг. Это в свою очередь можно объяснить тем, что в данных экстрактах содержатся полифенолы, проявляющие сильную антиоксидантную активность за счет наличия в своей молекуле большого количества гидроксильных групп.

Таким образом, данные экстракты, добавленные в продукты питания, могут значительно увеличить их антиоксидантные свойства и тем самым оказать положительное влияние на организм человека в целом.

Библиография

1. Тумельян В.А., Суханов Б.П., Австриевских А.Н., Позняковский В.М. Биологически активные добавки в питании человека (оценка качества и безопасности, эффективность, характеристика, применение в

профилактической и клинической медицине). – Томск: Изд-во НТЛ, 1999. – 296 с.

2. **Грушко И.М.** Основы научных исследований. Харьков. Вища школа. 1983- 222с.

3. **Мальцев Л.М.** Основы научных исследований. Киев. Вища школа. 1982-190с.

4. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance/ **Xiuzhen Han, Tao Shen and Hongxiang Lou**/ Int. J. Mol. Sci. 2007, 8, 950-988.

5. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls and pine saw dust/**Pinelo M., Rubilar M., Sineiro J., Ninez M.J.** Food Chem. 2004.85 №2. Pp. 267-273.

6. **Bub A., Watzl B., Heeb D., Reckemmer G., Briviba K.** Malvidin-3-glucoside bioavailability in humans after ingestion of red wine, dealcoholized red wine and red grape juice. Eur. J. Nutr. 2001, 40, Pp.113-120.

7. **Lotito S.B., Frei, B.** Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon? Free Radic. Biol. Med. 2006, 41, 1727-1746

8. **Bell J.R., Donovan J.L., Wong R., Waterhouse A.L., German J.B., Walzem R. L., Kasim-Karakas S.E.** (+)-Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. Am. J. Clin. Nutr. 2000, 71, Pp.103-108.

9. **Hua LI, Xiaoyu Wang, Peihong Li, Yong Li and Hua Wang.** Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 16, No. 6, 2008, Pp. 67-73.

10. **Chaovanalikit A. and Wrolstad R. E.** Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. J. Food Sci. 69. 2004, Pp.67-72.

11. **Brandwilliams W., Cuvelier M. E. and Berset C.** Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food. Sci. Technol. 28: 1995. Pp.25-30.

12. **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26: 1999. Pp.1231-1237.

13. **Apak R., Guclu K., Ozyurek M. and Karademir S. E.** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupricion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. J. Agri. Food Chem. 52: 2004. Pp. 7970-7981.

14. **Caturla N., Vera-Samper E., Villalain J., Mateo C. R. and Micol V.** The relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of

galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes. Free Radic. Biol. Med. 34: 2003. Pp.648-662.

15. **Shahidi F., Amarowicz R., He Y. H. and Wettasinghe M.** Antioxidant activity of phenolic extracts of evening primrose (*Oenothera biennis*): A preliminary study. J. Food Lip. 4: 1997. Pp.75-86.

16. **Janisch K. M., Olschlager C., Treutter D. and Elstner E. F.** Simulated digestion of *Vitis vinifera* seed powder: Polyphenolic content and antioxidant properties. J. Agri. Food Chem. 54: 2006. Pp. 4839-4848.

17. **Middelton E. Jr., Kandaswami C., Theoharides T.C.** The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacol. Rev. 2000. V.52, No.4. Pp.673-751;

18. **Widlansky M.E., Duffy S.J., Hamburg N.M., Gokce N., Warden B.A., Wiseman S., Keaney Jr., J.F., Frei B., Vita J.A.** Effects of black tea consumption on plasma catechins and markers of oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease. Free Radic. Biol. Med. 2005, 38, Pp.499-506.;

19. **Wolski T., Dyduch J., Najda A.** Evaluation of content and composition of phenolic acids and tannins in leaf dry matter of two celery cultivars. 2002.

20. **Yuan Jian, Xing-rong, Wang Li-feng, Guan Li-pei.**// Zhongguo youzhi. China oils and fats. 2006. 31, № 12, Pp. 52-55.;

21. **Zheng Hu-Zhe, Lee Hye-Ryun, Lee Sang-Han, Kim Chang-Seob, Chung Shin-Kyo**// Fenxi huaxue. China J. Anal. Chem. 2008. 36, №3, Pp. 306-310.