© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2013
УДК 615.014.24: 633.13

Кількісне визначення фенольних сполук Avena sativa L.

О.В.Бурцева

ДЗ «Луганський державний медичний університет»
Луганськ, Україна

Проведено фітохімічне дослідження трави молочної та молочно-воскової стиглості, зерна, коренів та триденних проростків вівса посівного. Встановлено кількісний вміст фенольних сполук в сировині Avena sativa L.: флавоноїдів (0,08-0,47%), гідроксикоричних кислот (0,2-1,69%), кумаринів (0,04-0,12%), поліфенольних сполук (0,29-1,21%).

Ключові слова: овес посівний, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, кумарини, поліфенольні сполуки.

ВСТУП

Овес посівний (Avena sativa L.) — однорічна трав'яниста рослина з родини М'ятликових (Злакових) — Poaceae (Gramineae), що є сільськогосподарською культурою зі значними посадочними площами, що обумовлює перспективи швидковідновлюваної сировинної бази [11, 12].

Насіння вівса є цінним харчовим продуктом, а зелену масу використовують в якості корму для свійських тварин. У народній медицині ця рослина широко застосовується в якості загальзміцнюючого, імуностимулюючого та заспокійливого засобу. Його використовують при шлунково-кишкових, серцево-судинних, гематологічних, дерматологічних і багатьох інших захворюваннях [6, 11, 14].

Дані систематичного вивчення хімічного складу сировини вівса відсутні, детально вивчався кількісний вміст білків, амінокислот насіння, що пояснюється традиційним використанням цієї рослини в якості кормової та харчової культури. Проте літературні дані щодо інших груп біологічно активних речовин (БАР), зокрема фенольних сполук у траві, коренях та проростках вівса, відсутні. Увагу фітохіміків фенольні сполуки привертають як БАР, які зумовлюють фармакологічну активність низки лікарських засобів на основі рослинної сировини [10].

Метою дослідження було вивчити вміст фенольних сполук у траві різних стадій стиглості, зерні, коренях та проростках Avena sativa L.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження було обрано траву молочної та молочно-воскової стиглості, зерно, корені та триденні проростки вівса посівного сорту «Донецький-14», що заготовлено в Луганській області в 2011 р.

Для досліджень використовували середню пробу сировини, втрату в масі при висушуванні визначали на 5 серіях сировини за методикою ДФУ I видання, доп. 2, п. 2.2.32 [4]. Для визначення якісного складу готували водні та водно-спиртові екстракти із сировини. Для приготування водних екстрактів 50,0 г сухої сировини заливали 200 мл води і нагрівали зі зворотним холодильником за допомогою киплячої водяної бані протягом 1 години. Отриманий екстракт фільтрували через складчастий фільтр. Екстракцію сировини проводили двічі новими порціями розчинника. Об'єднаний екстракт концентрували у вакуумі до 50 мл і використовували для визначення дубильних речовин, гідроксикоричних кислот [9, 13]. Водно-спиртові екстракти отримували аналогічним чином. В якості екстрагента використовували 70% етанол. Водно-спиртовий екстракт використовували для визначення кумаринів, флавоноїдів [7, 13].

Для попередньої оцінки якісного складу витяжок проводили загальноприйняті якісні реакції та метод тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках «Alugram Sil G/UV-254» у системах розчинників 5% розчин кислоти оцтової; 15% розчин кислоти оцтової (для ви-

явлення гідроксикоричних кислот); н-бутанол — кислота оцтова — льодяна вода (4:1:2); хлороформ — кислота оцтова льодяна — вода (13:6:2); хлороформ — метанол (9:1) (для виявлення флавоноїдів) в порівнянні з референтними зразками [1, 9].

Кількісне визначення груп фенольних сполук у сировині Avena sativa L. проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали в кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі UV/VIS 2800 за відповідної довжини хвилі.

Гідроксикоричні кислоти. 2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу місткістю 200 мл і додавали 70 мл води. Колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 15 хв. Екстракцію проводили ще двічі. Екстракти охолоджували і фільтрували крізь паперовий фільтр на воронці Бюхнера. Екстракти кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм розчину водою до мітки (розчин А).

У мірну колбу місткістю 50 мл вносили 3 мл розчину А і доводили об'єм розчину 20% етанолом до мітки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 327 нм. Розчин порівняння — 20% етанол.

Вміст суми гідроксикоричних кислот (X, %) у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 50 \cdot 100}{E^{1\%}_{1cі} \cdot m \cdot 3 \cdot (100 - W)},$$

де А — оптична густина досліджуваного розчину;

m — наважка сировини, г;

$E^{1\%}_{1см}$ — питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531;

W — втрата в масі при висушуванні, % [7]

Флавоноїди. Визначення кількісного вмісту флавоноїдів у перерахунку на рутин проводили згідно із загально відомою методикою, наведеною в ДФ СРСР XI видання, стаття «Трава зверобоя» [2].

Кумарини. 2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу місткістю 200 мл, додавали 50 мл 96% етанолу і кип'ятили в колбі зі зворотним холодильником 30 хв., суміш фільтрували, колбу і фільтр промивали двічі 96% етанолом по 10 мл, до об'єднаного фільтрату додавали 2 мл 10% розчину свинцю ацетату і кип'ятили ще 3 хв. Гарячу суміш фільтрували, колбу двічі промивали 96% етанолом по 10 мл. Спирто-водні екстракти переводили у водні відгонкою етанолу. Водні екстракти екстрагували 4 рази хлороформом порціями по 25 мл кожна. Об'єднані хлороформні екстракти промивали 5 мл води, воду відділяли, потім хлороформні екстракти сушили безводним сульфатом натрію. Натрію сульфат відфільтровували, промивали 3 рази по 10 мл хлороформом і розчин упарювали до сухого залишку, який розчиняли в 12 мл 96% етанолу. До отриманого розчину додавали 20 мл 0,1 М натрію гідроксиду і нагрівали 5 хв. на киплячій водяній бані при температурі 50-60°С. До охолодженого розчину додавали 8 мл свіжоприготованої діазотованої сульфанілової кислоти, перемішували і визначали оптичну густину забарвленого розчину в кюветі з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 490 нм.

Кількісний вміст кумаринів (X, %) у перерахунку на умбеліферон та абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{C \cdot V \cdot K \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 1000 \cdot (100 - W)},$$

С — концентрація кумаринів у мг/мл, що знайдена за калібрувальним графіком (рис. 1);

V — об'єм екстракту, мл;

К — коефіцієнт розведення;

m — маса наважки, г;

W — втрата в масі при висушуванні сировини, % [5].

Поліфенольні сполуки. 5,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу зі шліфом, додавали 50 мл 40% етанолу, приєднували до зворотного холодильнику і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв.

Гарячий екстракт фільтрували крізь вату, так щоб частини сировини не попадали на фільтр. Вату переносили в колбу для екстра-

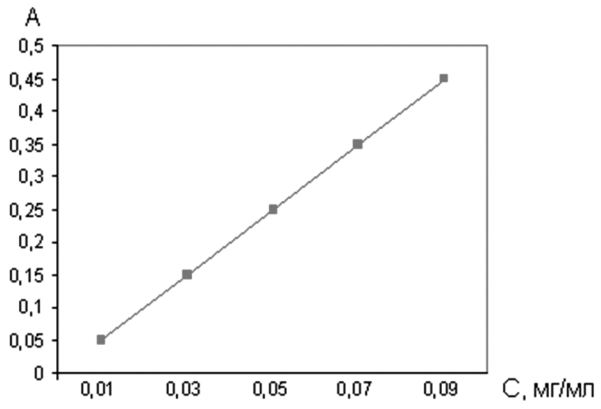

Рис. 1. Калібрувальний графік залежності абсорбції від концентрації кумаринів у перерахунку на умбеліферон.

ТАБЛИЦЯ 1

Кількісний вміст основних груп БАР в сировині вівса посівного, %

Група БАР	Трава молочно-воскової стиглості	Трава молочної стиглості	Зерно	Корені	Проростки
Флавоноїди	0,42±0,01	0,47±0,01	0,08±0,01	-	-
Гідроксикоричні кислоти	0,71±0,01	1,69±0,08	0,69±0,02	0,84±0,04	0,20±0,01
Кумарини	0,12±0,02	сліди	0,04±0,01	0,12±0,01	0,09±0,01
Поліфенольні сполуки	1,21±0,03	1,06±0,02	-	0,94±0,03	0,29±0,01

Примітка: *«-» — БАР не виявлені.*

гування і додавали 25 мл 40% етанолу. Екстракцію проводили ще двічі по 15 хв. отримані екстракти об'єднували і вміщували в мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину 40% етанолом до мітки (розчин А).

1 мл розчину А поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм 40% етанолом до мітки та перемішували. Вимірювали оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 270 нм в кюветі 10 мм. В якості розчину порівняння використовували 40% етанол.

Вміст суми поліфенольних сполук (Х, %) у сировині в перерахунку на кислоту галову та абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{540 \cdot m \cdot 1 \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

де А — абсорбція досліджуваного розчину;

m — маса наважки сировини, г;

540 — коефіцієнт питомого поглинання розчину кислоти галової у 40% етанолі при довжині хвилі 270 нм;

W — втрата в масі при висушуванні сировини, % [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами проведених реакцій флавоноїди були виявленні в траві вівса посівного, в зерні вівса посівного наявні сліди флавоноїдних сполук, флавоноїди не виявлені в коренях та триденних проростках вівса посівного, кумарини були виявлені в усіх досліджуваних об'єктах, дубильні речовини наявні в траві, коренях, триденних проростках вівса посівного та відсутні в зерні вівса посівного.

Після хроматографічного аналізу за характерною флуоресценцію в денному та УФ-світлі до та після обробки хроматограм 1% спиртовим розчином алюмінію (III) хлориду в порівнянні з референтними зразками в траві вівса посівного були виявлені чотири флавоноїдні сполуки, у тому числі рутин (R_f=0,53), гіперозид (R_f=0,63) та кверцетин (R_f=0,80). У зерні вівса посівного було знайдено дві флавоноїдні сполуки (кверцетин, гіперозид).

Гідроксикоричні кислоти виявлені за голубою флуоресценцією в УФ-світлі до та після обробки парами аміаку (флуоресценція підсилювалася). У результаті аналізу в сировині вівса посівного ідентифіковані хлорогенова та неохлорогенова кислоти.

Результати проведення кількісного визначення фенольних сполук у сировині вівса посівного наведені в табл. 1. Отже, вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин у траві молочно-воскової та молочної стиглості практично однаковий та складає близько 0,4%, що значно більше, ніж у зерні (до 0,1%). Як видно з табл. 1, трава молочної стиглості відзначається найбільшим вмістом гідроксикоричних кислот (1,69%), в інших видах сировини вміст гідроксикоричних кислот не перевищує 1%. Максимальний вміст кумаринів спостерігається в траві вівса посівного молочно-воскової стиглості та в коренях і складає близько 0,12%, що важливо щодо біологічної активності цих видів сировини, враховуючи специфічну дію даної групи БАР. Вміст поліфенольних сполук превалює в траві вівса посівного (1,21-1,06%).

ВИСНОВКИ

1. Проведено визначення кількісного вмісту фенольних сполук у сировині вівса посівного: флавоноїдів (0,08-0,47%), гідроксикоричних кислот (0,2-1,69%), поліфенольних сполук (0,29-1,21%).

2. Перспективним є подальше більш детальне вивчення компонентного складу кумаринів, враховуючи їх достатню кількість у сировині вівса посівного, адже дана група БАР виявляє специфічну біологічну активність.

3. З огляду на те, що різниця вмісту більшості груп БАР у траві вівса різних стадій незначна, запропоновано проводити заготівлю трави в стадії молочно-воскової стиглості з метою збереження врожаю та збільшення фітомаси.

ЛІТЕРАТУРА

1. Георгиевский В.П. Физико-химические методы и аналитические характеристики флавоноидных соеденений / В.П.Георгиевский, А.И.Рыбаченко, Л.А.Козаков. — Ростов: Изд-во Рост. ун-та, 1988. — 131 с.
2. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа / Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1990. — 400 с.
3. Демешко О.В. Динаміка накопичення суми поліфенольних речовин у листі акації білої / О.В.Демешко, А.М.Комісаренко // Фітотерапія. — Часопис. — 2005. — №4. — С. 63-65.
4. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 2 доп. — Х.: РІРЕГ, 2008. — 620 с.
5. Кузнецова Г.А. Природные кумарины и фурокумарины / Г.А.Кузнецова. — Л.: Наука, 1967. — 248 с.
6. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. — М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. — 992 с.
7. Лазурьевский Г.В. Практические работы по химии природных соединений / Г.В.Лазурьеский, И.В.Терентьева, А.А.Шампурин. — М.: Высшая школа, 1996. — 335 с.
8. Ларькина М.С. Изучение динамики накопления фенолкарбоновых кислот в надземной части василька шероховатого / М.С.Ларькина, Т.В.Кадырова, Е.В.Ермилова // Химия растительного сырья. — 2008. — №3. — С. 71-74.
9. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособ. / Под ред. В.Н.Ковалева. — Х.: Изд-во НФаУ: Золотые страницы, 2003. — 512 с.
10. Романова С.В. Кількісне визначення фенольних сполук Lens culinaris / С.В.Романова, С.В.Ковальов // Вісник фармації. — 2009. — №2 (58). — С. 24-26.
11. Тернинко І.І. Овес посівний (Avena sativa l.): фармакогностична характеристика та аспекти застосування / І.І.Тернинко, О.В.Бурцева // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2008. — Т. 3, №3. — С. 18-24.
12. Фармакогнозия. Атлас: учеб. пособие / Под ред. Н.И.Гринкевич, Е.А.Ладыгиной. — М.: Медицина, 1989. — 512 с.
13. Химический анализ лекарственных растений / Под ред. Н.И.Гринкевич, Л.Н.Сафронович. — М.: Высшая школа, 1983. — 176 с.
14. Яковлев Г.П. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия. Учебное пособие / Г.П.Яковлев, К.Ф.Блинова. — С.-Пб.: СпецЛит, 2004. — 765 с.

Е.В.Бурцева. Количественное определение фенольных соединений Avena sativa L. Луганск, Украина.

Ключевые слова: *овес посевной, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, кумарины, полифенольные соединения.*

Было проведено фитохимическое исследование травы молочной и молочно-восковой зрелости, зерна, корней и трехдневных проростков овса посевного. Установлено количественное содержание фенольных соединений в сырье Avena sativa L.: флавоноидов (0,08-0,47%), гидроксикоричных кислот (0,2-1,69%), кумаринов (0,04-0,12%), полифенольных соединений (0,29-1,21%).

H.V.Burtseva. The quantitative determination of Avena sativa L. phenolic compounds. Lugansk, Ukraine.

Key words: *oat, flavonoids, hydroxycinnamomic acid, coumarin, polyphenolic compounds.*

Phytochemical investigation of sowing oats herb, grains, roots and seeds has been carried out. The quantitative content of phenolic compounds in raw material Avena sativa L.: flavonoids (0,08-0,47%), hydroxycinnamomic acids (0,2-1,69%), coumarins (0,04-0,12%), polyphenolic compounds (0,29-1,21%) has been determined.

Надійшла до редакції 03.08.2013 р.