

УДК: 537.962:635.8

ВИКОРИСТАННЯ БІОЛОГІЧНИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ МІКРОХВИЛЬОВОГО ЕКСТРАГУВАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

С. Г. Коломійчук¹, І. Л. Бошкова²,
Т. В. Коломійчук³, К. Ю. Георгієш²,

¹ – ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України»

² – Одеська національна академія харчових технологій

³ – Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова

На біологічних тестах досліджували ефективність екстрактів з грибів гливи і Шії-таке, отриманих з використанням мікрохвильової технології. Встановлено, що досліджувані екстракти грибів суттєво стимулюють захисні системи організму мишей, підвищуючи опірність до дії отруйних речовин і відповідно збільшують тривалість життя. Показано, що екстракт з Шії-таке має більш високу біологічну активність при порівнянні з екстрактом з гливи. Встановлено, що використання мікрохвильових технологій при екстрагуванні біологічно активних речовин дозволяє суттєво підвищити біологічну активність отриманих екстрактів, про що свідчать більш високі показники дріжджового теста і загальної антиокислювальної активності екстрактів в експерименті in vitro.

Ключові слова: мікрохвильова екстракція, гриби, біологічні тести, антиокислювальна активність.

Погіршення екологічного стану навколишнього середовища в умовах хронічного впливу природних і антропогенних чинників призводить до підвищеного навантаження антиоксидантної і детоксикаційної систем органів та тканин і, як результат, до зниження адаптаційних можливостей організму [1].

Тому, розробка нових ефективних засобів, направлених на корекцію або стабілізацію метаболічних систем організму, які можуть підвищувати стійкість організму до несприятливих чинників навколишнього середовища, особливо в екстремальних умовах (переохолодження, забруднення радіонуклідами і пестицидами і т. д.), являється важливим завданням фармакологічної науки [2].

Відомо, що препарати, отримані з рослиної сировини при порівнянні з хімічними засобами мають меншу непереносимість і менш виражену побічну дію. В рослинній сировині містяться амінокислоти, вітаміни, мінеральні речовини та інші специфічні сполуки, які визначають їх

використання при профілактиці різних патологічних станів організму. Так, наприклад, крім вищенаведених фізіологічно-активних речовин, 1,3- R- D-глюкани грибів (пентинан, шизіфілан, курдлан) мають протипухлинну активність [3, 4].

Тому при переробці і екстрагуванні біологічно активних речовин (БАР) з рослинної сировини, з метою збереження їх фармакологічної дії, необхідно враховувати, що в ній містяться сполуки різних класів.

За нашого часу велика увага надається дослідженням лікарських засобів природнього походження, розробці їх модифікацій і технології виробництва. Крім того, питання інтенсифікації технологічних процесів екстрагування БАР відноситься до сучасних проблем технології фітохімічних лікарських засобів. Застосування мікрохвильових технологій дозволяє в значній мірі підвищити швидкість і ефективність екстрагування речовин з рослинної сировини. До того ж мікрохвильове екстрагування БАР сприяє збереженню їх фізіологічної активності, екологічно безпечна, а також має відносно низьку собівартість [5-7].

Мета нашої роботи - дослідження на біологічних тестах ефективності екстрагування БАР з грибів при застосуванні мікрохвильової технології.

Матеріал та методи досліджень. Плодові тіла грибів гливи (*Pleurotus ostreatus*) і Шії – таке (*Lentinus edodes*) подрібнювали і використовували для екстрагування БАР за допомогою апарату Сокслета протязі 3 годин без і з мікрохвильовою обробкою (5 хв, 600 Вт).

Для оцінки впливу БАР отриманих екстрактів (звичайне струшування, Сокслет-екстракція і Сокслет-екстракція в поєднанні з мікрохвильовою обробкою - МХО) грибів використовували дріжджовий тест, принцип якого полягав в здатності екстракту прискорювати ріст і розмноження дріжджових клітин. Ефект оцінювали колориметричним методом. Дослідження проводили з чистою культурою *Saccharomyces cerevisiae* (штам 47) в стерильних умовах. Дріжджову суспензію (водний розчин 3-добової культури з оптичною густиною 0,05 – 0,06 од.) вносили в стерильні пробірки. В дослідні пробірки добавляли 1 мл екстракта і 5 мл розчину Рідера, а в контрольні – відповідний об'єм 0,9% фізіологічного розчину. Через 20 годин після інкубації при 28°C вимірювали оптичну густина розчину і розраховували різницю між дослідною і контрольною пробами (ум. од.) [8].

Дослідження антитоксичної дії екстрактів були проведені на білих нелінійних мишах при одноразовій ін'єкції 0,02 мл 0,01% розчину стрихніну (по 10 тварин) і 1,5% розчину нітриту натрію (викликає кисневе голодування змішаного типу) в дозі 0,2 мл (по 10 тварин) на 10 г маси тварини. Попередньо на протязі 10 діб дослідні (уведення екстракту з грибів Шії-таке) і контрольні (уведення 0,9% фізіологічного розчину) тварини отримували екстракт або фізіологічний розчин відповідно. При дослідженні антигіпоксичної дії екстракту у мишей (по 10 тварин) викликали гістотоксичну гіпоксію введенням нітропрусида натрія в дозі 20

мг/кг маси, яким попередньо уводили за 3 часа екстракт (контроль – фізіологічний розчин). Результати біотестування оцінювали по тривалості життя [8].

Отриманні екстракти використовували також для визначення загальної антиокислювальної активності в експерименті *in vitro* [9].

Результати підлягали статистичній обробці за допомогою програми “Statistica 5.5”. У випадку дріжджового тесту, загальної антиокислювальної активності використовували параметричний t-критерій для незалежних груп, а при оцінці дослідження антиоксидантної і антигіпоксичної дії екстрактів – непараметричний метод для незалежних груп Мана-Уїтні.

Результати досліджень. Дослідження біологічної активності екстрактів з плодівих тіл гливи на дріжджовому тесті показали, що при використанні Соклет – екстракції відзначали тенденцію до збільшення показника росту і розмноження дріжджових клітин на 8,8%, а при мікрохвильовій обробці – на 115,8 ($p < 0,01$) по відношенню до групи «Струшування» (табл. 1). Застосування екстракту з Шії-таке викликало збільшення активності на 11,6% ($p < 0,05$) при Соклет-екстракції та на 15,9% при Соклет-екстракції в поєднанні з мікрохвильовою обробкою ($p < 0,01$) при порівнянні з звичайним струшуванням (табл. 1).

Таблиця 1

Дослідження біологічної активності екстрактів з плодівих тіл гливи і Шії-таке на дріжджовому тесті (ум. од.)

Стат. показ.	Екстракт з гливи			Екстракт з Шії-таке		
	Струшування	Соклет – екстракція	МХО+ Соклет – екстракція	Струшування	Соклет – екстракція	МХО+ Соклет – екстракція
n	18	18	18	19	19	19
M	0,057	0,062	0,066	0,069	0,077	0,080
m	0,002	0,003	0,002	0,003	0,003	0,002
p ₁	-	>0,05	<0,01	-	<0,05	<0,01
p ₂	-	-	>0,05	-	-	>0,05

Примітки: p₁ - рівень вірогідності по відношенню до контролю; p₂ - рівень вірогідності по відношенню до групи «Соклет – екстракція».

Слід також зазначити, що екстракт з Шії-таке мав більш високу біологічну активність на дріжджовому тесті: у всіх трьох варіантах екстрагування активність препарату з Шії-таке була вірогідно вище на 21-24% по відношенню до відповідних варіантів з використанням екстракту з гливи.

При визначенні антиокислювальної активності в експерименті *in vitro* (табл. 2) нами було визначено, що екстракти, отримані при використанні мікрохвильового поля, проявляють більшу загальну

антиокислювальну активність при порівнянні з екстрактами після Соклет – екстракції (на 11,1%, $p>0,05$) і особливо по відношенню до контролю (на 19,2%, $p<0,05$).

Таблиця 2

Загальна антиокислювальна активність (в %) екстрактів з плодкових тіл грибів Шії – таке в експерименті *in vitro*

Статистич. показники	Условия екстрагирования		
	Контроль	Соклет – екстракція	МХО+Соклет – екстракція
n	7	7	7
$M \pm m$	26 ± 1	28 ± 1	31 ± 2
p_1	-	$>0,05$	$<0,05$
p_2	-	-	$>0,05$

Примітки: p_1 - рівень вірогідності по відношенню до контролю; p_2 - рівень вірогідності по відношенню до групи «Соклет – екстракція».

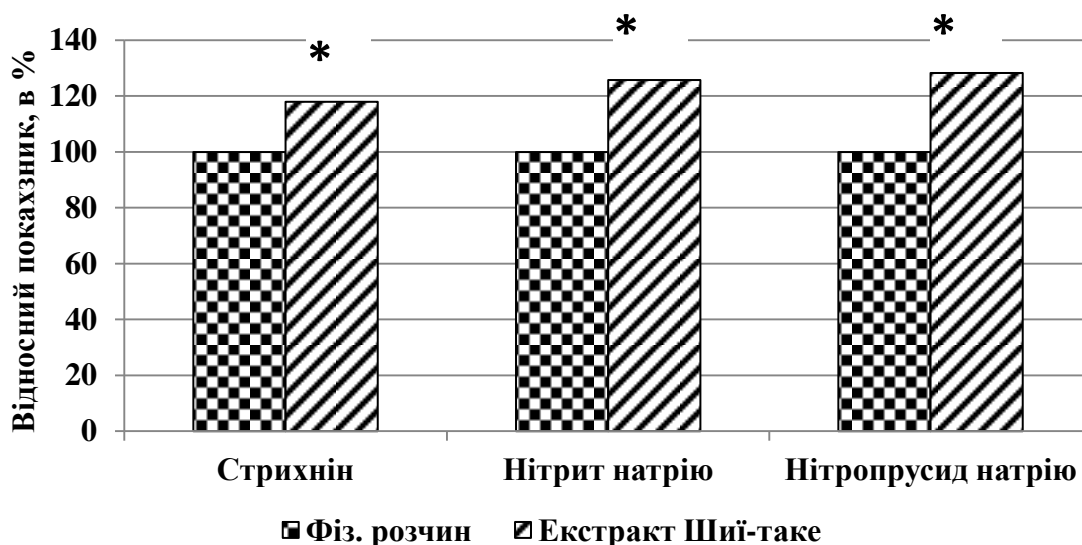


Рис. 1 Відносний показник антитоксичної і антигіпоксичної дії екстракту Шії-таке. *- $p<0,05$ по відношенню до контрольної групи (фізіологічний розчин)

При дослідженні антитоксичної і антигіпоксичної дії екстракту з грибів Шії-таке (рис. 1) після комбінованого екстрагування встановлено збільшення тривалості життя мишей на 18% (стрихніновий тест), на 25,8% (при уведенні нітриту натрію) і на 28,3% (при гіпоксії) по відношенню до контрольних тварин.

Висновки

Встановлено, що досліджувані екстракти грибів суттєво стимулюють захисні системи організму мишей, підвищуючи опірність до дії отруйних речовин і відповідно збільшують тривалість життя. Показано, що екстракт

из ШИИ-таке має більш високу біологічну активність при порівнянні з екстрактом з гливи. Використання мікрохвильових технологій при екстрагуванні БАР сприяє суттєвому підвищенню біологічної активності отриманих екстрактів, про що свідчать більш високі показники дріжджового тесту і загальної антиокислювальної активності екстрактів в експерименті *in vitro*.

Література

1. Schachmatova O.A. The response of aquatic organisms to stress factors marine ecosystem / O. A. Schachmatova // *Ecosystems* — 2012. — № 7. — P. 98 — 113. (In Russian)
2. Smagulova T.B. Adaptogenic effect of complex vegetative means "Fitoton" under the experimental conditions / T. B. Smagulova, N.V. Ten, S.M. Nikolaev // *Sibirskiy med. zhurnal*. — 2008. — V. 97, № 4. — P. 80 — 82. (In Russian)
3. Bekker Z.E. Physiology of fungi and their practical use/ Z. E. Bekker — M.: Mosk. universitet Publ., — 1973. — P. 56-64. (In Russian)
4. Bilai V. Fungi / V. Bilai, N. Bisko // *Oгородnik pl.* — 2000. — № 11. — 30 p. (In Russian)
5. Horsten D.V. Herstellung qualitativ hochwertiger Trockenprodukte: Kombination von Mikrowellen und Warmluft / D.V. Horsten, S. Saghir // *Landtechnik*. — 1999. — V. 54. — P. 282 — 283.
6. Lukyanchuk I. I. Microwave extraction of bioactive compounds from vegetable raw materials / I. I. Lukyanchuk, A. N. Sangeli // *Microwave technology in the national economy*. — Odessa, 2009. — V. 7 — 8. — P. 61 — 65. (In Russian)
7. Kalinin L.G. Systematic analysis of the conditions of extraction of plant raw materials in the food and pharmaceutical production/ L. G. Kalinin // *Microwave technology in the national economy*. — Odessa, 2009. — V. 7 — 8. — P. 9 — 14. (In Russian).
8. Solovyeva V.P. Experimental study of bio-stimulants from natural raw materials/ V. P. Solovyeva, O. P. Sotnikova, T. D. Lotosh // *Preclinical studies of drugs*. — K., 2001. — P. 497 — 502. (In Ukraine).
9. Klebanov G.I. Assessing the blood plasma antioxidant activity using the yolk lipoproteins / G. I. Klebanov, I. V. Babenkova, Y. O. Teselkin, O. S. Komarov, Y. A. Vladimirov // *Laboratory work*. — 1988. — № 5. — P. 59 — 62.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ

ЭФФЕКТИВНОСТИ МИКРОВОЛНОВОГО ЭКСТРАГИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ.

С. Г. Коломийчук¹, И. Л. Бошкова², Т. В. Коломийчук³, К. Ю. Георгиеш²,

¹ – ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины»

² – Одесская национальная академия пищевых технологий

³ – Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова

На биологических тестах исследовали эффективность экстрактов из грибов вешенки и Ши-таке, полученных с использованием микроволновой технологии. Установлено, что исследуемые экстракты грибов существенно стимулируют защитные системы организма мышей, повышая сопротивляемость к воздействию отравляющих веществ и соответственно увеличивают продолжительность жизни. Показано, что экстракт из Ши-таке имеет более высокую биологическую активность при сравнении с экстрактом из вешенки. Установлено, что использование микроволновых технологий при экстрагировании БАВ позволяет значительно повысить биологическую активность полученных экстрактов, о чем свидетельствуют более высокие показатели дрожжевого теста и общей антиокислительной активности экстрактов в эксперименте in vitro.

Ключевые слова: микроволновая экстракция, грибы, биологические тесты, антиокислительная активность.

USING BIOLOGICAL TESTS FOR THE ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF MICROWAVE EXTRACTION BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

S. G. Kolomiichuk¹, I. L. Boshkova², T. V. Kolomiichuk³, E.U. Georgiesh²,

¹ - S. I. "Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the NAMS of Ukraine",

² - Odessa National Academy of Food Technologies,

³ - The Odessa National University named after I. I. Mechnikov

The extract efficiency from the oyster (Pleurotus Osteratus) and Shii-take mushrooms was obtained using microwave technology and investigated on biological tests. The investigated mushrooms extracts are known to stimulate significantly the mice body's defense systems, increasing resistance to the effects of toxic substances and thus to increase the life span .It was shown that the extract of the Shii-take has higher biological activity compared with the extract of oyster mushrooms. It was found that the use of microwave technology in extracting BAS significantly increase the biological activity obtained extracts, as evidenced higher scores dough and total antioxidant activity of the extracts in the in vitro experiment.

Key words: microwave extraction, mushrooms, biological tests, antioxidant activity.