

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ
В ТРАВЕ ТИМЬЯНА ПОЛЗУЧЕГО

С. А. АЙРАПЕТЯН

Горисский государственный университет
Армения, 3205, Горис, ул. Авангарда, 4
Факс (24810), E-mail: syuzanhayrapetyan@rambler.ru

Поступило 16 VI 2014

Кинетическим методом с помощью уравнения $\tau = f \cdot \frac{[InH]_0}{V_i}$ определено суммарное содержание антиоксидантных веществ в исследованных этилацетатных экстрактах тимьяна ползучего (ТП) и изучена их антиоксидантная активность при 348K. Исследована зависимость суммарного содержания и изучена антиоксидантов в этилацетатных экстрактах от вегетации ТП. Спрямляя экспериментальные данные в координатах уравнений $\frac{[\Delta O_2]}{[RH]} = -\frac{k_2}{k_7} \ln \left(1 - \frac{t}{\tau}\right)$ и $\frac{V_0}{V_{\infty}} - \frac{V}{V_0} = \frac{k_{71} \cdot f \cdot [QH]}{\sqrt{k_6} \cdot V_i}$, определены константы скоростей реакции линейного обрыва цепей на ингибиторах ($RO_2' + InH \xrightarrow{k_7} ROOH + In'$) и продуктах (QH) их окисления ($RO_2' + QH \xrightarrow{k_{71}} ROOH + Q'$), характеризующих антиоксидантную активность исследованных экстрактов. Обнаружено, что величины k_7 и k_{71} практически не зависят от времени сбора ТП. Это свидетельствует о том, что по мере вегетации растения, несмотря на то, что меняется количественное содержание антиоксидантных веществ, химический состав антиоксидантов практически не меняется.

Установлено, что в течение вегетации содержание антиоксидантов в траве изменяется в 2.5 раза. Причем максимальное содержание антиоксидантных веществ наблюдается в начале цветения.

Рис. 3, табл. 1, библиограф. ссылки 9.

Общее ухудшение экологической обстановки окружающей среды привело к увеличению риска развития окислительного стресса у людей. Окислительный стресс сопровождается накоплением в организме свободных радикалов, что приводит к усугублению заболеваний и ускоряет старение [1]. Эффективными перехватчиками радикалов являются фенольные антиоксиданты природного происхождения [2]. Как правило,

синтез фенольных соединений в естественных условиях осуществляется только высшими растениями и микроорганизмами. Поэтому в растениях фенольные антиоксиданты являются обязательными компонентами и присутствуют в значительных количествах [3]. Известно, что накопление в лекарственных растениях фармакологически активных веществ является динамическим процессом, именующимся в онтогенезе растения, а также зависящим от многочисленных факторов внешней среды [4,5].

Цель исследования — определить динамику накопления антиоксидантов в траве тимьяна ползучего (ТП), дать рекомендации по срокам сбора для получения наибольшего содержания антиоксидантных веществ.

Экспериментальная часть

В работе использовано растительное сырье ТП в его разных фенофазах, произрастающего в Горисском регионе Армении. Представители рода тимьян давно привлекают внимание исследователей как лекарственные растения. Известно, что биологическая активность тимьяна связана, прежде всего, с присутствием в них фенольных соединений [6]. Собранные образцы высушивали при температуре 313K до постоянного веса и растирали в керамической ступке до порошкообразного состояния (размер частиц ≤ 1 мм). К порошку добавляли дважды перегнанный этилацетат с соотношением 1:20 (на 1 г порошка — 20 мл этилацетата), выдерживали при комнатной температуре в течение суток, далее отфильтровывали через бумажный фильтр. После испарения растворителя при комнатной температуре экстракт окончательно высушивали в вакуумном шкафу до постоянного веса.

Антиоксидантное действие полученного экстракта изучали кинетическим методом. В качестве модельной реакции было выбрано инициированное окисление кумола. Опыты по окислению проводили на манометрической установке с автоматическим регулированием давления [7]. В качестве источника свободных радикалов использовали азо-ди-изобутиронитрил (АИБН), растворителем служил хлорбензол. Объем реакционной смеси во всех опытах составлял 5 мл. Метод основан на непосредственной регистрации поглощенного кислорода в результате окисления кумола и позволяет с помощью уравнения (1) из периодов индукции (τ) определить суммарное содержание антиоксидантов в исследованных этилацетатных экстрактах:

$$\tau = f \cdot \frac{[InH]_0}{V_i}, \quad (1)$$

где $[InH]_0$ — исходная концентрация ингибитора; V_i — скорость иницирования; f — стехиометрический коэффициент ингибирования — число радикалов, обрывающихся на одной молекуле ингибитора-антиоксиданта. Учитывая, что в экстрактах ТП из антиоксидантных веществ содержатся в основном тимол и карвакрол, в расчетах для коэффициента ингибирования принимали значение $f=2$ [9].

Результаты и их обсуждение

Опыты показали, что, независимо от времени сбора исследуемого сырья, полученные экстракты обладают антиоксидантными свойствами. На кинетических кривых поглощения кислорода обнаруживаются периоды индукции (рис. 1), которые описываются (рис. 2, 3) уравнением (1). Пользуясь данными рис. 2 и уравнением (1), определили суммарное содержание антиоксидантов в исследованных экстрактах. Результаты приведены в таблице.

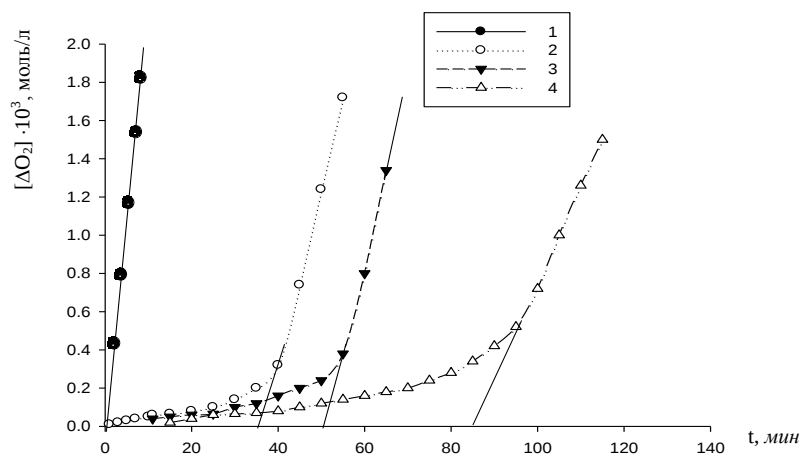


Рис. 1. Кинетические кривые поглощения кислорода окисляющегося кумола в отсутствие (1) и в присутствии 4 мг экстракта ТП. Время сбора сырья 09.04. (2); 21.07 (3) и 22.04. (4). $V_i=1.25 \cdot 10^{-7}$ моль/л·с, $T=348K$.

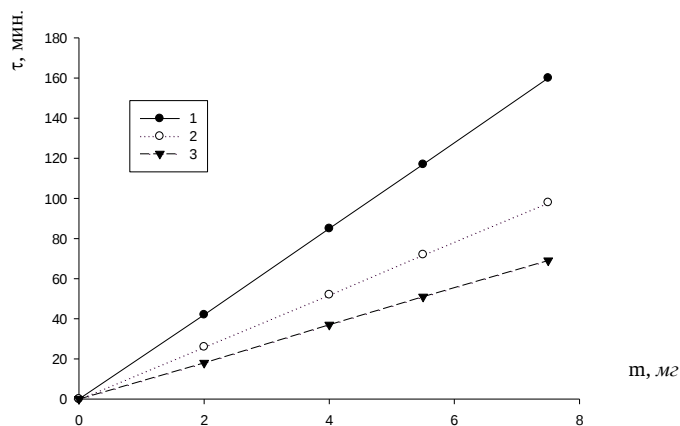


Рис. 2. Зависимость периода индукции поглощения кислорода от массы экстракта ТП. Время сбора сырья 22.04 (1); 21.07 (2) и 09.04 (3). $T=348\text{ K}$.

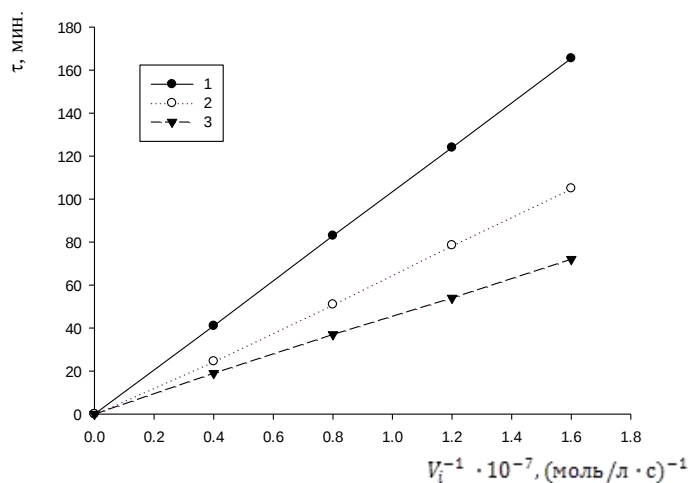


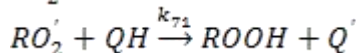
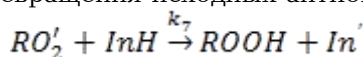
Рис. 3. Зависимость периода индукции поглощения кислорода окисляющегося кумола в присутствии 4 мг экстракта ТП от величины скорости иницирования. Время сбора сырья 22.04 (1); 21.07 (2) и 09.04 (3). $T=348\text{ K}$.

Из данных таблицы следует, что содержание антиоксидантных веществ (в расчете на 1 мг экстракта) в зависимости от вегетации ТП меняется в пределах от $0.7 \cdot 10^{-4}$ до $1.6 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Причем максимальное накопление антиоксидантов в траве ТП совпадает с началом его цветения.

**Суммарное содержание антиоксидантных веществ в 1 мг экстракта ТП
в зависимости от времени сбора сырья и параметры k_7 и k_{71} ,
характеризующие их антиоксидантные активности. Т=348К.**

Время сбора травы ТП	$f \cdot [InH] \cdot 10^4$, моль/л	$k_7 \cdot 10^{-4}$, л/моль·с	$k_{71} \cdot 10^{-2}$, л/моль·с
09.04.2013	0.70	5.87	2.80
15.04.2013	1.15	6.25	2.95
22.04.2013	1.60	6.02	3.45
15.05.2013	1.25	2.10	3.35
27.05.2013	1.05	5.75	3.55
21.06.2013	1.05	5.95	3.65
21.07.2013	0.93	6.15	2.95
01.09.2013	0.90	6.30	3.75
27.09.2013	0.78	6.45	3.15
26.10.2013	0.75	7.00	4.00
Среднее		6.00 $\pm$ 0.15	3.46 $\pm$ 0.15

Помимо содержания антиоксидантных веществ, определяли также кинетические параметры k_7 и k_{71} , характеризующие антиоксидантные активности исследованных экстрактов, где k_7 – константа скорости реакции пероксидных радикалов кумола с антиоксидантами, находящимися в экстрактах, а k_{71} – константа скорости реакции RO_2' радикалов с продуктами (QH) превращения исходных антиоксидантов:



Для определения k_7 и k_{71} экспериментальные данные спрямляли в координатах уравнения (2) и (3) [8]:

$$\frac{[\Delta O_2]}{[RH]} = -\frac{k_2}{k_7} \ln \left(1 - \frac{t}{\tau} \right), \quad (2)$$

$$\frac{V_0}{V_{\infty}} - \frac{V_{\infty}}{V_0} = \frac{k_{71} \cdot f \cdot [QH]}{\sqrt{k_6 \cdot V_i}}, \quad (3)$$

где $[\Delta O_2]$ – концентрация поглощенного кислорода за время $t < \tau$; τ – период индукции; $[RH] = 2.87$ моль/л – концентрация кумола; V_0 и V_{∞} соответственно скорости окисления кумола в отсутствие и в присутствии экстракта за время $t > \tau$; k_2 и k_6 – константы скоростей реакции продолжения ($RO_2' + RH \xrightarrow{k_2} ROOH + R'$) и квадратичного обрыва цепей ($RO_2' + RO_2' \xrightarrow{k_6}$ молекулярные продукты). В расчете k_7 и k_{71} учитывалось, что $k_2 = 4.667 \cdot 10^6 \exp(-9800/RT)$ л/моль·с, а $k_6 = 4.74 \cdot 10^5 \exp(-1800/RT)$ л/моль·с, и предполагалось, что $f \cdot [InH]_0 = f \cdot [QH]_0$ [9].

Результаты расчетов k_7 и k_{71} приведены в таблице, из которой видно, что величины k_7 и k_{71} практически не зависят от времени сбора ТП. Это свидетельствует о том, что по мере вегетации растения, несмотря на то, что меняется содержание антиоксидантных веществ, химический состав антиоксидантов практически не меняется.

Таким образом, определено суммарное содержание антиоксидантных веществ в экстрактах травы ТП по мере ее вегетации; установлено, что в траве ТП наибольшее количество антиоксидантных веществ накапливается в период бутонизации; определены значения константы скоростей реакции линейного обрыва цепей как на исходных антиоксидантах (InH), содержащихся в экстрактах, так и на продуктах их окисления (QH).

ՈՒՐՅ ՍՈՂԱՅՈՂԻ ԽՈՏԱՎՈՒՄՔՈՒՄ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԱՆՆԵՐԻ ԿՈՒՏԱԿՄԱՆ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ

Ս. Ա. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ

Կինետիկական մեթոդով $\tau = f \cdot \frac{[InH]_0}{V_i}$ Հավասարման միջոցով որոշվել են ուրց սողացողի էթիլացետատային էքստրակտում հակաօքսիդիչ նյութերի գումարային պարունակությունը և դրանց հակաօքսիդիչ ակտիվությունը 348Կ ջերմաստիճանում: Ըստ փորձնական տվյալների, կառուցելով դրաֆիկ $\frac{[\Delta O_2]}{[RH]} = -\frac{k_2}{k_7} \ln \left(1 - \frac{t}{\tau} \right)$ և $\frac{V_0}{V_\infty} - \frac{V}{V_0} = \frac{k_7 \cdot f \cdot [QH]}{\sqrt{k_6 \cdot V_i}}$ Հավասարումների կոորդինատներով, որոշվել են ինհիբիտորների ($RO_2' + InH \xrightarrow{k_7} ROOH + In'$) և դրանց օքսիդացման արգասիքների՝ QH ($RO_2' + QH \xrightarrow{k_{71}} ROOH + Q'$), վրա չդիմացի գծային հատման արագության հաստատունները: Ուսումնասիրվել է հակաօքսիդիչների գումարային պարունակության կախվածությունը ուրց սողացողի վեգետացիայից: Հաստատվել է, որ k_7 և k_{71} մեծությունները գործնականում կախված չեն ուրց սողացողի հավաքման ժամկետներից: Դա վկայում է այն մասին, որ չնայած վեգետացիայից կախված փոխվում է հակաօքսիդիչների քանակական պարունակությունը, սակայն քիմիական կազմը գործնականում չի փոխվում:

Հաստատվել է, որ վեգետացիայի ընթացքում ուրց սողացողի խոտահումքում հակաօքսիդիչների պարունակությունը փոխվում է 2.5 անգամ: Ընդ որում, հակաօքսիդիչների առավելագույն քանակությունը դիտվում է ծաղկման սկզբնական փուլում:

DYNAMICS OF THE ACUMULATION OF ANTIOXIDANTS IN THE CREEPING THYME

S. A. HAYRAPETYAN

Goris State University
4, Avantgarde Str., Goris, 3205, Armenia
Fax: (374 284) 23603, E-mail: syuzanhayrapetyan@rambler.ru

There were determined the overall content of antioxidants in the studied ethyl acetate extracts of creeping thyme and their antioxidant activity at 348K via kinetic method with the help of equation $\tau = f \cdot \frac{[InH]_0}{V_i}$. Dependence of the overall content of antioxidants in extracts on the vegetation of creeping thyme was studied. Via leveling off the experimental data in coordinate positions in equations $\frac{[\Delta O_2]}{[RH]} = -\frac{k_2}{k_7} \ln \left(1 - \frac{t}{\tau} \right)$ and $\frac{V_0}{V_{\infty}} - \frac{V_{\infty}}{V_0} = \frac{k_{71} \cdot f \cdot [QH]}{\sqrt{k_6 \cdot V_i}}$, the rate constants of the linear chain termination reaction on inhibitors ($RO'_2 + InH \xrightarrow{k_7} ROOH + In'$) and on their oxidation products (QH) ($RO'_2 + QH \xrightarrow{k_{71}} ROOH + Q'$), characterizing antioxidant activity of the investigated extracts has been determined as well. It was determined that k_7 and k_{71} actually did not depend on the time of collection of creeping thyme. This witnesses that the chemical composition of antioxidants actually doesn't change while the medical herb is vegetating in spite of changes in quantitative content of antioxidants.

It was determined that the content of antioxidants in the medical herb changed about 2.5 times. The maximal amount of antioxidants is noticed in the beginning of flowering.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Bhattacharjee S. / Current Sci., 2005, v. 89, №7, p.1113.
- [2] Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность. М., 1988, 274 с.
- [3] Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М., 1977, 239 с.
- [4] Ефремов А.А., Шаталина Н.В., Стрижева Е.Н., Первышена Г.Г. // Химия растительного сырья, 2002, №3, с. 53.
- [5] Варданян Л.Р., Шутова А.Г., Айрапетян С.А., Варданян Р.Л., Агабеков В.Е., Решетников В.Н. // Доклады НАН Беларуси, 2013, т.57, №5, с. 72.
- [6] Sokmen A., Gulluce M., Akpulute H.A. // Food Control., 2004, №15, p. 627.
- [7] Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К. Цепные реакции окисления углеводов в жидкой фазе. М., Мир, 1965, 375 с.
- [8] Денисов Е.Т., Азатян В.В. Ингибирование цепных реакций. Черноголовка, 1997, с. 51.
- [9] Denisov E.T. Handbook of Antioxidants: Bond dissociation energies, Rate constants, activation energies, and enthalpies of reactions, CRC Press, Boca Raton, New York, Tokyo, 1995, 174 p.