

УДК 547.814.5

ЭКСТРАКЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ

© С.Е. Синютина, С.В. Романцова, В.Ю. Савельева

Ключевые слова: флавоноиды; растительное сырье; анализ; УФ-спектроскопия; биодизельное топливо; антиоксидантные свойства.

Проведены выделение, идентификация и количественное определение флавоноидов, содержащихся в крапиве двудомной, сирени обыкновенной, рябине обыкновенной, овсе посевном химическими методами качественного анализа и с использованием УФ-спектроскопии. Исследованы антиоксидантные свойства растительных экстрактов по отношению к биодизельному топливу.

Флавоноиды – биологически активные полифенольные соединения растительного происхождения, в основе которых лежит молекула флавана. Для них характерно капилляроукрепляющее, кардиотропное, спазмолитическое, гипотензивное, мочегонное, желчегонное, гепатозащитное, кровоостанавливающее, противовоспалительное действие [1–2].

Флавоноиды являются сильными антиоксидантами, обеспечивая защиту от повреждающего воздействия ультрафиолетового излучения, окисления и повреждающих свободными радикалами. Механизм действия флавоноидов основан на их способности обрывать разветвленные цепные реакции окисления: взаимодействуя с радикалом, они отдают протон, превращая радикал в молекулярный продукт, а сами превращаются в слабый феноксил-радикал, не способный участвовать в продолжении цепной реакции [3–5].

Антиоксидантные свойства флавоноидов имеют более широкий спектр, чем у таких сильных антиоксидантов, как витамины С и Е, селен и цинк [6].

В последнее время некоторые флавоны и флавонолы стали использоваться как ультрафиолетовые абсорберы и термостабилизаторы, светостабилизаторы полимерных и органических композиций, как нетоксичные стабилизаторы пищевых продуктов, например жиров и масел, а также смазочных материалов [7–8].

Целью данного исследования было выделение флавоноидов из растительного сырья, произрастающего на территории Тамбовской области, и изучение их антиоксидантных свойств.

Объектами исследования служили листья крапивы двудомной (*Urtica dioica*), цветки сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris*), ягоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*) и зерна овса посевного (*Avena fructus*), собранные на территории Тамбовской области, сушка сырья воздушно-теневая.

При получении экстрактов использовались: этанол 95 %, этанол 70 %.

Для качественного обнаружения флавоноидов с полученными экстрактами проводили цианидиновую пробу (проба Синода), пробу Брианта, реакции с хлоридом железа, хлоридом алюминия, спиртовым раствором гидроксида натрия, с магнием в соляной кислоте

[9]. Результаты анализа позволили предположить наличие в экстрактах флавонов и флавонолов с различным количеством гидроксильных групп в молекуле в форме как гликозидов, так и агликонов.

Результаты качественного анализа были подтверждены хроматографическим исследованием (система растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 5), хроматографические пластины Sorbfil). Пятна флавоноидов обнаруживали по флуоресценции их в УФ-свете (290–360 нм) после обработки хроматограмм 5 %-ным спиртовым раствором хлорида алюминия [10].

Для количественного определения суммы флавоноидов в растительном сырье были взяты 70 %-ные экстракты, а также ГСО рутин и кверцетин в 70 %-ном этаноле. Стандартные растворы и экстракты обрабатывали 2 %-ным спиртовым раствором $AlCl_3$. Спектры оптического поглощения исследуемых образцов регистрировали на спектрофотометре СФ-200 в диапазоне длин волн 200–600 нм в кюветах из кварцевого стекла толщиной 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 70 %-ный водный раствор этанола.

Максимумы поглощения окрашенных комплексов спиртового извлечения из цветов сирени, листьев крапивы, ягод рябины с раствором $AlCl_3$ наблюдались при длине волны 405 нм, для экстракта зерен овса – при длине волны 420 нм. Аналогичные максимумы поглощения отмечены для комплекса ГСО рутин с хлоридом алюминия (405 нм) и кверцетин (420 нм). Это дает возможность использовать длину волны 420 нм в качестве аналитической для экстрактов зерен овса и 405 нм – для всех остальных экстрактов. В качестве стандарта использовали тот флавоноид (ГСО рутин, кверцетин), максимум поглощения комплекса которого наиболее соответствует максимуму поглощения комплекса с хлоридом алюминия исследуемого образца.

Наиболее богаты флавоноидами экстракты крапивы двудомной и овса посевного (табл. 1).

В литературе неоднократно указывалось на наличие у флавоноидов антиоксидантных свойств. Поэтому интересным было исследовать растительные экстракты, содержащие флавоноиды, как добавки, замедляющие окислительные процессы. В качестве объекта исследования было выбрано биодизельное топливо.

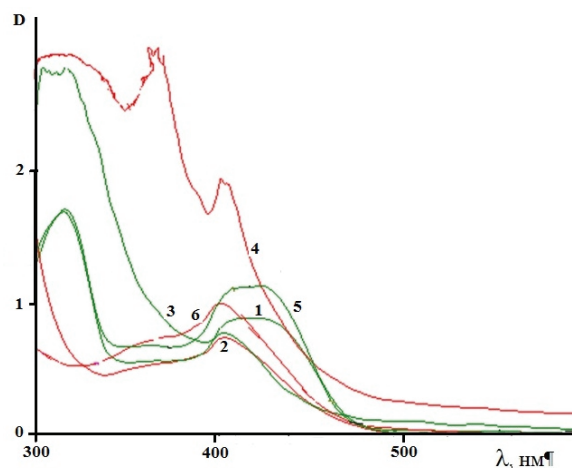


Рис. 1. Спектры поглощения окрашенных комплексов биофлавоноидов с хлоридом алюминия в 70 %ном этаноле: 1 – раствор ГСО рутина; 2 – раствор ГСО кверцетина; 3 – экстракт сирени; 4 – экстракт крапивы; 5 – экстракт овса; 6 – экстракт рябины

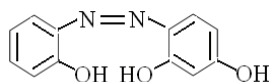
Таблица 1

Содержание флавоноидов в растительных экстрактах (x, %) в пересчете на рутин и кверцетин (экстракт зерен овса)

Экстракт	x, %
Экстракт листьев крапивы	0,11
Экстракт цветов сирени	0,04
Экстракт ягод рябины	0,05
Экстракт зерен овса	0,08

Для более эффективного предотвращения процессов коррозии, окисления и полимеризации топлив структура ингибитора должна включать развитую сопряженную π-электронную систему (предпочтительно ароматические фрагменты), функциональные группы, способные отщеплять протон (например, гидрокси- или аминогруппы). Если хранение осуществляется в металлических резервуарах, для подавления каталитического действия металла присадка должна обладать группами, способными образовывать с металлами комплексы, неактивные по отношению к гидропероксидам. Наибольшей стабильностью обладают соединения, образующие внутрикомплексные соли, в основном, хелатного строения [11].

Так, например, требованиям, предъявляемым к структуре полифункциональных присадок, отвечают 2,2'-дигидроксиазосоединения



Известно, что молекулы, содержащие гидроксильные группы в о-положении к азогруппе, способны образовывать прочные хелатные комплексы с ионами металлов переменной валентности. В дизельных топливах такие соединения проявляют антикоррозионные свойства, замедляют окислительные, полимеризационные и коагуляционные процессы [11].

Однако тем же требованиям отвечает и структура флавоноидов, содержащихся в исследуемых спиртовых экстрактах. В состав их молекул входят ароматические фрагменты, хотя их сопряженная система несколько меньше, т. к. ароматические кольца не сопряжены друг с другом. В молекулах флавоноидов присутствуют также гидроксильные группы; при этом, например в рутине, две гидроксильные группы в орто-положении друг к другу способны образовывать комплексы с металлами. Кроме того, известно, что для торможения окислительных процессов в растительных маслах в качестве антиоксиданта используют спиртовые экстракты зерна овса.

Биодизельное топливо отличается от нефтяного по строению его компонентов. В состав нефтяного дизельного топлива входят преимущественно алифатические углеводороды предельного и непредельного строения; а компонентами биодизельного топлива являются метиловые эфиры высших непредельных алифатических кислот, более близким к ним по строению являются триацилглицерины растительного масла.

Эффективность исследуемых спиртовых экстрактов как антиокислительных присадок исследовали, определяя химическую стабильность биодизельного топлива специальным квалификационным методом, по которому определяется стабильность дизельных топлив при хранении [12]. Метод основан на принципе моделирования хранения в лабораторных условиях при повышенной температуре в присутствии медной пластинки. Образцы выдерживали при температуре 100 ± 3 °C два цикла по 8 ч каждый. По окончании выдержки оценивали стабильность топлива по изменению таких его характеристик, как плотность [13], кинематическая вязкость [14], кислотное число [15], содержание механических примесей [16].

Концентрация спиртовых экстрактов зерен овса, плодов рябины и листьев крапивы в биодизельном топливе, синтезированном из подсолнечного масла, составляла 3 %(об.), экстракты хорошо растворимы в биодизельном топливе. Добавление присадки и исследуемых спиртовых экстрактов увеличивают кинематическую вязкость биодизельного топлива, что несколько ухудшает их эксплуатационные свойства (табл. 2, 3). Как в присутствии присадки, так и при добавлении исследуемых экстрактов, после экспериментального хранения изменение кинематической вязкости меньше, чем в биодизельном топливе без добавок. Наименьшее изменение наблюдается в присутствии 2,2',4'-тригидроксиазобензола ($\Delta = 0,43$) и экстракта зерен овса ($\Delta = 0,47$); изменения в присутствии экстрактов плодов рябины и листьев крапивы более значительны (0,53 и 0,95 соответственно), но они все же меньше, чем у биодизельного топлива без добавок ($\Delta = 1,47$), что свидетельствует о наличии у исследуемых экстрактов антиокислительных свойств.

Изменения плотности растворов в ходе экспериментального хранения незначительны, но в присутствии добавок они все же меньше, чем у чистого топлива, что подтверждает наличие стабилизирующих свойств.

Кислотное число биодизельных топлив в процессе экспериментального хранения уменьшается, а не увеличивается, как у нефтяного дизельного топлива. Это свидетельствует о том, что хранение биодизельных топлив при высоких температурах в присутствии переходных металлов сопровождается протеканием реак-

ции декарбоксилирования (отщепления карбоксильной группы), что способствует снижению коррозионной агрессивности биодизельных топлив. Кислотное число биодизельного топлива после добавления исследуемых экстрактов несколько увеличивается, что также негативно сказывается на его эксплуатационных свойствах (табл. 3). При этом самое значительное снижение наблюдается для исследуемых спиртовых экстрактов (значение $\Delta = 1,9$ абсолютно одинаково для всех трех образцов).

Таблица 2

Физико-химические показатели биодизельного топлива без присадок и с добавлением 2,2',4'-тригидроксиазобензола. Числитель – до испытания, знаменатель – после испытания

№	Наименование показателя	Без присадки	С присадкой
1	Плотность 15° С, кг/м ³	883/889	883/884
2	Вязкость кинематическая 15° С, мм ² /с	7,69/9,16	7,90/8,33
3	Кислотное число, мг КОН/100 см ³ топлива	1,86/0,29	1,86/0,11
4	Содержание механических примесей, мг/100 см ³ топлива	отс./0,1	отс./отс.

Таблица 3

Физико-химические показатели биодизельного топлива с добавлением экстрактов овса, рябины и крапивы. Числитель – до испытания, знаменатель – после испытания

№	Наименование показателя	Экстракт овса	Экстракт рябины	Экстракт крапивы
1	Плотность 15° С, кг/м ³	884/885	884/885	884/886
2	Вязкость кинематическая 15° С, мм ² /с	8,15/8,62	8,52/9,16	8,10/9,05
3	Кислотное число, мг КОН/100 см ³ топлива	1,95/0,05	2,00/0,10	2,07/0,17
4	Содержание механических примесей, мг/100 см ³ топлива	отс./отс.	отс./отс.	отс./0,08

Наличие механических примесей после экспериментального хранения отмечено для самого биодизельного топлива и в присутствии экстракта листьев крапивы. Возможно, что в осадок выпадают не продукты окисления, а сопутствующие флавоноидам вещества, присутствующие в экстракте.

Добавление исследуемых экстрактов несколько ухудшает эксплуатационные свойства биодизельного топлива, но изменение плотности, кинематической вязкости и содержания механических примесей в их присутствии меньше, чем в топливе без присадки, что подтверждает стабилизирующие свойства компонентов, входящих в экстракты. Наилучшими стабилизирующими свойствами обладает экстракт зерен овса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захаров В.П., Либизов Н.Н., Асланов Х.А. Лекарственные вещества из растений и способы их производства. Ташкент: ФАН УзССР, 1980. 232 с.
2. Черных В.П., Георгиянц В.А., Зупанец И.А. Клинико-фармацевтические аспекты применения фитопрепарата Умкалор // Медицинская газета «Здоровье Украины». 2003. № 67. Март.
3. Запроматов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1994. 240 с.
4. Шкарина Е.И., Максимова Т.В., Никулина И.Н., Лозовская Е.П., Чумакова З.В., Пахомов В.П., Сапежинский И.М., Арзамасцев А.П. О влиянии биологически активных веществ на антиоксидантную активность фитопрепаратов // Химико-фармацевтический журнал. 2001. Т. 35. № 6. С. 40-47.
5. Тюкавкина Н.А., Руленко И.А., Колесник Ю.А. Использование дигидрокверцетина в качестве антиоксидантной пищевой добавки // Экология человека: проблемы и состояние лечебно-профилактического питания: тез. докл. 3 Междунар. симп. М., 1994. Ч. 2. С. 189-1911.
6. Запроматов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1994. 240 с.
7. Даношевский А.С. Авт. свид. СССР № 130671.
8. Панасенко А.И., Старков С.П., Казарян К.С. // Известия ВУЗов: Химия и химическая технология. 1975. Т. 18. Вып. 3. С. 678.
9. Химический анализ лекарственных растений: метод. пособие / под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. М.: Высш. шк., 1983. 176 с.
10. Бандюкова В.А. Тонкослойная хроматография флавоноидов. Пятигорск, 1977. 57 с.
11. Романцова С.В. Эффективность азосоединений в качестве ингибиторов коррозии стали и окисления углеводородных топлив в условиях их хранения: автореф. дис. ... канд. хим. наук: 05.17.14. Тамбов, 1999. 21 с.
12. Гуреев А.А. Квалификационные методы испытаний нефтяных топлив. М.: Химия, 1984.
13. ГОСТ Р 51069-97. Нефть и нефтепродукты. Метод определения плотности, относительной плотности и плотности в градусах API ареометром.
14. ГОСТ 33-2000. Нефтепродукты. Прозрачные и непрозрачные жидкости. Определение кинематической вязкости в расчете динамической вязкости.
15. ГОСТ 5985-79. Нефтепродукты. Метод определения кислотности и кислотного числа.
16. ГОСТ 6370-83. Нефть, нефтепродукты и присадки. Метод определения механических примесей.

Поступила в редакцию 12 ноября 2010 г.

Sinyutina S.E., Romantsova S.V., Savelyeva V.Yu. Extraction of flavonoides from plant material and study of their antioxidant properties

The separation, identification and quantification of flavonoids contained in nettle, common lilac, mountain ash, oat sowing by chemical methods of qualitative analysis and by UV spectroscopy were performed. The antioxidant properties of plant extracts in relation to biodiesel were investigated.

Key words: flavonoids; plant materials; analysis; UV-spectroscopy; biodiesel fuel; antioxidant properties.