

УДК 581.192:634.1

Н. А. КОПЫЛОВА, Н. А. ЛАМАН

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ПЛОДОВЫХ
И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР
ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК К ПИЩЕ**

*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск,
e-mail: natal.kopylova.68@mail.ru*

(Поступила в редакцию 18.12.2014)

Введение. Создание эффективных функционально-корректирующих препаратов, предназначенных для коррекции химического состава пищи и выступающих как лечебно-профилактические средства для вспомогательной терапии, в настоящее время весьма актуально. Основой таких препаратов становятся ткани лекарственных растений, мицелиальных грибов, а также плоды и ягоды, в больших количествах содержащие комплексы биологически активных веществ, в том числе и липофильной природы.

Наиболее ценные липофильные вещества – каротиноиды, токоферолы и другие жирорастворимые витамины, а также эссенциальные жирные кислоты, фосфолипиды, стероиды, полиацетилены. Соединения липидной природы принимают активное участие в различных метаболических, регуляторных и обменных процессах, входят в состав важнейших структурных элементов клетки.

Основным требованием к препаратам из растительного сырья при их разработке является обеспечение высокой эффективности и биологической доступности. Следует отметить, что обычно средства лечения на основе растений готовятся в виде отваров и настоев, представляющих собой вытяжку действующих веществ с помощью жидкости при высокой температуре [1]. Однако такая обработка растительного сырья может приводить к разрушению отдельных лекарственных веществ, содержащихся в растениях [2]. Кроме того, ценные липофильные соединения в данном случае практически не извлекаются и идут в отходы.

Другим способом приготовления растительных биологически активных веществ (БАВ) является сушка измельченного растительного сырья. Сушка позволяет отказаться от применения химических экстрагентов, использования консервантов и стабилизаторов. Однако явными недостатками данного метода является порошкообразная форма, затрудняющая дозирование и не обеспечивающая удобство применения в любых условиях. Кроме того, вопрос об активности различных видов растительного сырья в зависимости от степени измельчения и эффективности его усвоения до настоящего времени остается не до конца изученным [3].

Ткани некоторых растений не усваиваются или плохо усваиваются организмом. Из таких лекарственных трав БАВ предварительно извлекаются и предоставляются для употребления в какой-либо дозированной форме (таблетки, капсулы, настойки). Существуют три основных направления в технологии извлечения БАВ из сухого растительного сырья для изготовления препаратов на их основе [4]:

1. Получение галеновых препаратов, содержащих весь комплекс экстрактивных веществ, растворимых в конкретном экстрагенте.

2. Получение новогаленовых препаратов, содержащих биологически активные вещества, освобожденные от балластных веществ.

3. Фитохимическая переработка растительного сырья, при которой из растений выделяются индивидуальные действующие вещества или их смеси (алкалоиды, гликозиды, эфирные масла, дубильные и другие вещества).

Недостатком двух последних способов является использование химических технологий и консервантов. Следует отметить, что сначала выделяют из растительного сырья действующие вещества в чистом виде, затем при приготовлении лекарственных форм в последние добавляют формообразующие вещества, стабилизаторы, консерванты, пролонгаторы, корригенты. В результате производители избавляются от природных балластных веществ и добавляют в продукт синтетические химические соединения.

Как известно, природный комплекс БАВ действует более мягко, зачастую эффективнее индивидуальных соединений и даже при значительной передозировке не вызывает осложнений. В любом лекарственном растении синтезируются одновременно сотни биологически активных веществ. Этим объясняется эффект их комплексного воздействия на различные органы и системы человека. Присутствие балластных и сопутствующих веществ во многих случаях способствует пролонгированию лечебного эффекта, усиливает и ускоряет его наступление [5]. Поэтому важным моментом технологий извлечения БАВ из растительного сырья является экстракция.

Основным недостатком препаратов, полученных с помощью водной экстракции растительного сырья, является малый срок хранения [6], что и является главной причиной их ограниченного применения. При необходимости к водным извлечениям добавляются консерванты: нипагин, нипазол, кислота сорбиновая и др. Различные экстрагенты (вода, спирт, углекислота, пар и пр.) дают селективное и, следовательно, неполное извлечение БАВ (из клетки извлекаются лишь те вещества, которые растворяются в конкретном экстрагенте или вступают с ним во взаимодействие). Однако, как уже отмечалось, именно комплекс веществ в составе лекарственных растений зачастую придает им дополнительные полезные свойства, которых нет у индивидуальных соединений, выделенных из тех же растений.

Цель исследования – разработка технологий, позволяющих создать экологически безопасные препараты и пищевые добавки, сохранив при этом природные комплексы биологически активных веществ.

Материалы и методы исследования. Определение содержания каротиноидов и токоферолов методом ВЭЖХ в растительных тканях проводили на хроматографе «Цвет 4000» (Россия), укомплектованном спектрофотометрическим детектором «Цвет СФ-05», насосом «Цвет БПЖ-80» и системой обработки данных Цвет-Аналитик v 1.03 D. Режим элюции изократический.

Материалы и реактивы, используемые для проведения исследований: стальная колонка ODS Separon SGX, 4×150 мм, размер частиц 7 мкм (ELSICO, Россия); предколонка ODS Separon SGX, 4×40 мм, размер частиц 7 мкм (ELSICO, Россия); фильтры Whatman 0.2 мкм PP w/GMF 13 mm; стандарты (β-каротин, ликопин, лютеин (ксантофилл) (Fluka, Швейцария); ацетонитрил для ВЭЖХ (Panreac, Испания); этилацетат (Sigma-Aldrich, Германия); метанол (Merck, Германия).

Расход подвижной фазы составил 500 мкл/мин; аналитическая длина волны – 470 нм для каротиноидов и 292 нм для токоферолов. Количественное определение каротиноидов и токоферолов проводили методом абсолютной калибровки, используя соответствующие стандарты (β-каротин, ликопин, лютеин (ксантофилл) (Fluka, Швейцария) и α-токоферол (BioChemica, Германия).

Содержание аскорбиновой кислоты определяли модифицированным методом Hewitt и Dickes [7].

Для экстракции гидрофильных и липофильных соединений и приготовления эмульсии использовали разработанные нами методики [8, 9].

Результаты и их обсуждение. Приведенные в статье результаты исследований являются обобщением трехлетней работы по данной тематике. Основой экспериментальной части исследований послужили разработанные нами воспроизводимые методики экстракции липофильных антиоксидантов, а также методики их качественного и количественного определения с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, которые позволили оценить содержание каротиноидов и токоферолов в мякоти плодов и ягод растений – представителей семейств Розоцветные, Жимолостные, Лохо-

вые, Кизилловые, Барбарисовые, Брусничные, Кипарисовые [10], а также в листьях зеленных культур семейства Зонтичные [11] и выделить из них наиболее перспективные для получения БАВ.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что среди исследованных плодово-ягодных культур наиболее перспективными потенциальными источниками ликопина и β -каротина являются плоды шиповника (9,3–141,7 мг ликопина/100 г сырой массы и 1,9–34 мг β -каротина/100 г сырой массы в зависимости от вида и других факторов), плоды рябины обыкновенной (10,43 мг β -каротина/100 г сырой массы), боярышника мягковатого (6,07 мг β -каротина/100 г сырой массы), облепихи крушиновидной (5,3–14,2 мг β -каротина/100 г сырой массы), листья зеленных культур семейства Зонтичные (15,1–32,3 мг β -каротина/100 г сырой массы и 5,9–17,3 мг лютеина/100 г сырой массы).

Наибольшее содержание токоферолов среди исследованных видов отмечено в ягодах рябины обыкновенной (5,77 мг/100 г сырой массы), облепихи крушиновидной (4,27 мг/100 г сырой массы) и листьях сельдерея пахучего (6,01 мг/100 г сырой массы) [10].

Показано, что среди исследованных плодово-ягодных культур наиболее перспективными потенциальными источниками каротиноидов и аскорбиновой кислоты являются шиповники, в частности шиповник Беггера [10]. Последний отличается особенно высоким содержанием ликопина, который рассматривается как соединение с мощным антиоксидантным действием. Интересен также тот факт, что хроматограмма экстракта плодов шиповника Беггера сходна с хроматограммой экстракта мякоти плодов томата, которые традиционно считаются основным источником ликопина (рис. 1).

В настоящее время томаты и производимые из них продукты (соусы, пасты, кетчупы) чаще всего используют для производства ликопина. Однако в зависимости от степени зрелости томатов они могут содержать токсичный алкалоид томатин (3–5 мг.%) [12], а также пуриновые основания, которые способствуют развитию нарушений азотистого обмена. Томаты богаты кальциевыми солями щавелевой кислоты, что делает их нежелательным продуктом для людей, страдающих заболеваниями суставов и подагрой. Кроме того, томаты уступают шиповнику по содержанию аскорбиновой кислоты. Поэтому препараты лечебно-профилактического действия, полученные из гипантиев шиповника, обладают рядом преимуществ.

Нами исследован биохимический состав гипантиев шиповника как одного из наиболее перспективных сырьевых источников для создания биологически активных добавок к пище. Общеизвестно значение плодов шиповника и препаратов на их основе (чай, отвары, каротолин, масло семян шиповника, Холосас, Шиповит и др.). Чай и отвары содержат комплекс гидрофильных соединений, в том числе аскорбиновую кислоту, и используются как поливитаминное общеукрепля-

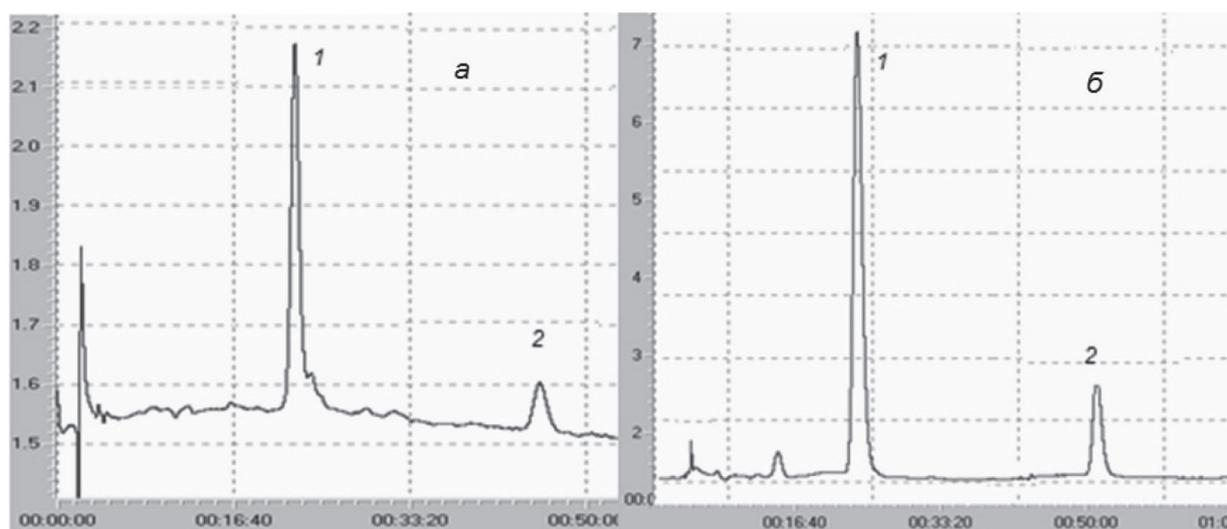


Рис. 1. Анализ экстрактов плодов шиповника Беггера (а) и мякоти плодов томата (б) методом обращено-фазовой ВЭЖХ. Пики: 1 – ликопин, 2 – бета-каротин. На оси абсцисс указано время, мин; на оси ординат – сигнал спектрофотометрического детектора, мВ

ющее средство. Каротин и масло шиповника содержат липофильные соединения, их применяют в качестве противоожоговых, противовоспалительных, ранозаживляющих препаратов. Однако более актуальной представляется разработка комплексного препарата, содержащего одновременно как гидрофильные, так и липофильные биологически активные соединения. Кроме того, производство такой субстанции было бы практически безотходным, что позволило бы более рационально использовать ценное растительное сырье.

С этой целью с помощью различных растворителей изучены параметры процесса экстракции каротиноидов и токоферолов из гипантиев шиповника. Показано, что применение растительного масла в качестве экстрагента позволяет получить препарат с достаточно высоким содержанием липофильных антиоксидантов без использования токсичных растворителей [8]. Такой способ выделения дает возможность дольше сохранять каротиноиды в экстрактах. Хотя растительные масла обладают более низкой экстрагирующей способностью по сравнению с органическими растворителями, они имеют ряд преимуществ: не токсичны, содержат широкий спектр БАВ, в частности токоферолы и непредельные жирные кислоты, и позволяют получать суммарные фитопрепараты с высоким содержанием действующих веществ. Анализ динамики изменения биологической активности каротиноидов показал, что она может сохраняться на высоком уровне в течение 6 мес. при комнатной температуре [8]. Исследованы также условия и способы экстракции аскорбиновой кислоты из плодов шиповника, показано, что максимальный в нашем случае выход наблюдается при двухступенчатой экстракции сырья этанолом с последующим добавлением эквивалентного количества воды [13].

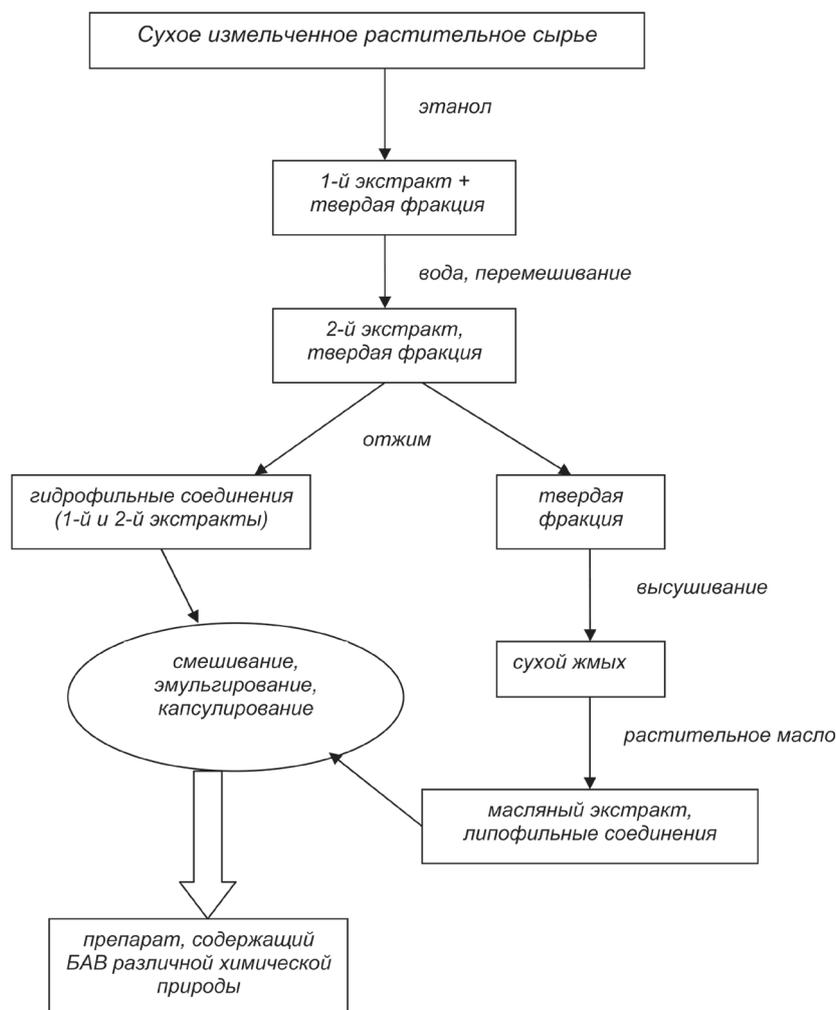


Рис. 2. Схема получения комплексного антиоксидантного препарата из растительного сырья

При создании субстанций лечебно-профилактического действия важное место занимает вопрос биодоступности действующих веществ. Известно, что для полноценного усвоения липофильных компонентов пищи в желудочно-кишечном тракте происходит их эмульгирование. Следовательно, создание препарата в виде эмульсии позволило бы объединить в составе одной субстанции несмешивающиеся БАВ различной химической природы и добиться высокой усвояемости пищевой добавки. Для достижения данной цели нами изучены условия получения устойчивой эмульсии, содержащей липофильные и гидрофильные БАВ: осуществлен подбор эмульгаторов, определена их оптимальная концентрация, соотношение гидрофильной и липофильной фаз, способ механического воздействия, температурный режим [9].

В результате анализа и обобщения полученных нами экспериментальных результатов был разработан способ получения биологически активных композиций из растительного сырья, суть которого отражена на рис. 2.

Заключение. Липофильные антиоксиданты растительных тканей представляют собой очень перспективный источник лекарственных и диагностических препаратов, который далеко не исчерпан. Исследование состава и содержания антиоксидантов культурных и дикорастущих плодово-ягодных культур позволило выделить виды, наиболее перспективные для производства отечественных биологически активных добавок к пище, а также разработать способ получения экологически безопасной комплексной субстанции, содержащей одновременно гидрофильные и липофильные БАВ.

Таким образом, изучение качественного и количественного содержания каротиноидов, токоферолов и аскорбиновой кислоты, а также разработка методов их выделения и получения позволяют обосновать применение специальных приемов при производстве БАВ и создать новые рациональные технологии их получения.

Литература

1. Прищеп Т. П. Основы фармацевтической биотехнологии. Томск, 2006.
2. Каухова И. Е. // Растительные ресурсы. 2006. Т. 42. Вып. 1. С. 82–91.
3. Кузнецова М. А. Лекарственное растительное сырье и препараты. М., 1987.
4. Чуешов В. И. Промышленная технология лекарств. Харьков, 2002.
5. Егорова Е. Ю. // Пищевая промышленность. 2007. № 11. С. 12–14.
6. Кравченко С. Н. // Хранение и переработка сельхозсырья. 2005. № 7. С. 62–64.
7. Hewitt E. J., Dickes G. J. // Biochem. J. 1961. Vol. 78. P. 384–391.
8. Копылова Н. А., Ламан Н. А. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2013. № 1. С. 24–29.
9. Копылова Н. А., Ламан Н. А. // Ботаника (исследования). 2013. Вып. 42. С. 349–358.
10. Ламан Н. А., Копылова Н. А., Беляков В. М. // Ботаника (исследования). 2011. Вып. 40. С. 458–468.
11. Ламан Н. А., Копылова Н. А. // Материалы Междунар. конф., посвящ. 80-летию ЦБС НАН Беларуси, Минск, 19–22 июня 2012 г. Минск, 2012. С. 108–111.
12. Rick C. M. // Proc. of NAS (USA). 1994. Vol. 91, N 12. P. 877–881.
13. Копылова Н. А., Ламан Н. А. // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: материалы II междунар. науч.-практ. конф. Минск, 2012. С. 345.

N. A. KOPYLOVA, N. A. LAMAN

THE INVESTIGATION OF LIPHOPHILIC ANTIOXIDANTS OF FRUIT AND BERRY CROPS AS THE BASIS OF DEVELOPMENT OF BIOLOGICAL ACTIVE FOOD ADDITIVES

Summary

The study of some antioxidant compounds of fruits and berries of cultivated and wild species has allowed to develop a method for producing complex, environmentally safe dietary supplements, including a two-stage extraction and the emulsification process, which achieves the union as part of a single substance of lipophilic and hydrophilic bioactive compounds. This method makes it possible to obtain useful for the human and animal food additives and makes better use of valuable components of fruits and leaves of plants.