

УДК 582.943:581.19

А. В. БАШИЛОВ

## ОСОБЕННОСТИ КИНЕТИКИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПРИСУТСТВИИ АНТИОКСИДАНТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 18.06.2008)

Замедление процесса ухудшения качества и пролонгирование сроков хранения продуктов питания – одна из важных задач технологии переработки. Многие вещества, например антиоксиданты, позволяют превращать скоропортящееся продовольствие в пищевые товары, которые стабильно сохраняют свою питательную ценность и безопасность в течение длительного времени. Действие антиоксидантов осуществляется в основном за счет ингибирования процессов перекисного окисления липидов. Использование в качестве антиокислителей ингибиторов пероксидации растительного происхождения имеет ряд преимуществ по сравнению с синтетическими аналогами: они малотоксичны и являются полезными функциональными добавками [1].

Перспективными источниками биоантиоксидантов растительного происхождения являются лекарственные растения. К группе таких растений, культивируемых на территории Республики Беларусь, можно отнести синюху голубую (*Polemonium coeruleum* L.): растение характеризуется широким спектром фармакологического действия, а также высоким содержанием биоантиоксидантов. Синюха голубая применяется в клинической практике при лечении заболеваний нервной системы и дыхательных путей. Широко культивируется в центральной агроклиматической зоне Беларуси [2, 3].

Цель настоящей работы – изучение влияния флавоноидсодержащих экстрактивных веществ, полученных из соцветий, листьев, корней и корневищ *Polemonium coeruleum* L., на интенсивность процессов перекисного окисления пищевого масла льна с последующей возможностью применения изученных экстрактов в качестве безопасных ингибиторов процессов пероксидации льняного масла.

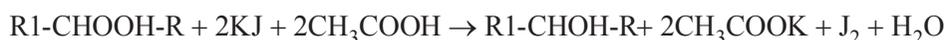
**Материалы и методы исследования.** Работа проводилась в 2008 г. на базе отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси. Объектами исследования являлись: воздушно-сухое растительное сырье *Polemonium coeruleum* L. (соцветия, листья, корни и корневища) и пищевое масло льна.

Для получения флавоноидсодержащих экстрактов в колбу объемом 150 мл помещали 1 г растительного сырья и добавляли 30 мл 90%-ного спирта, содержащего 1% концентрированной хлористоводородной кислоты, после чего колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин (экстракцию проводили трижды). Полученные экстракты охлаждали до комнатной температуры и фильтровали в мерную колбу с последующим удалением этанола на роторном испарителе до получения сухого остатка [4].

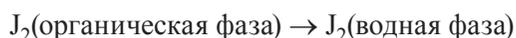
Основную роль в пероксидации ненасыщенных жирных кислот играет образование гидроперекисей как ключевых продуктов, обуславливающих цепной механизм перекисного окисления. Наличие гидроперекисей в маслах характеризуется таким показателем, как перекисное число (ПЧ).

Методика определения ПЧ относится к так называемым методам заместительного титрования. В основе метода лежат следующие процессы:

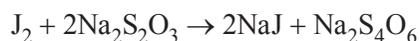
1) гомогенное окисление йодида калия гидроперекисями с образованием вторичных спиртов и выделением молекулярного йода:



2) экстракция выделяющегося йода в водную фазу:

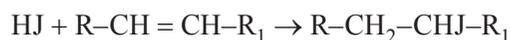


3) гомогенное восстановление йода тиосульфатом натрия в водной фазе:

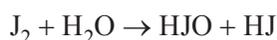


Многокомпонентность такой системы обуславливает возможность протекания ряда побочных реакций:

1) присоединение йодоводорода по двойным связям ненасыщенных жирных кислот:

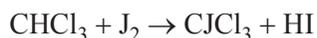


2) диспропорционирование йода:



Реакция диспропорционирования обратима, однако присоединение йодида водорода по двойным связям сдвигает равновесие в сторону прямой реакции. Также нужно отметить, что гипойодит-ион заметно более слабый окислитель, чем йод, поэтому диспропорционирование йода почти неизбежно приводит к смещению равновесия реакции титрования тиосульфатом натрия влево и ее торможению;

3) реакции замещения в органической фазе:



Все побочные реакции протекают в очень малой степени и незначимы для измерения ПЧ.

Эксперименты проводили по доработанной методике А. О. Здравениной [5], регламентированной Государственной фармакопеей Республики Беларусь, в уксусно-хлороформной среде при температуре 18–20 °С [6]. В конической колбе емкостью 200 мл отвешивали 2 г масла льна. Навеску растворяли в 20 мл смеси ледяной уксусной кислоты и хлороформа (2 : 1 по объему), прибавляли 5 мл 50%-ного раствора йодида калия, сосуд закрывали пробкой и ставили в темное место на 35 мин, после чего доливали 50 мл дистиллированной воды и оттитровывали выделившийся йод 0,002 н. раствором тиосульфата натрия (индикатор – крахмал). Одновременно проводили контрольное титрование (без масла).

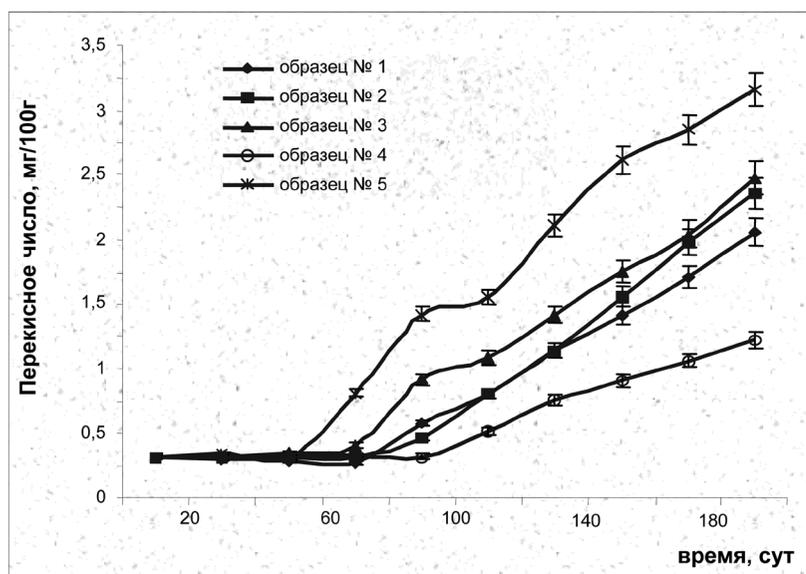
Значение ПЧ (количество миллиграммов йода, выделенное гидроперекисями, содержащимися в 100 г масла) рассчитывали по уравнению

$$ПЧ = (V_k - V_o) k \cdot 0,0002538 \cdot 100/m,$$

где  $V_k$  – объем 0,002 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный при контрольном определении, мл;  $V_o$  – объем 0,002 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный при титровании опытного образца, мл;  $k$  – поправочный коэффициент раствора тиосульфата натрия; 0,02538 – титр 0,002 н. раствора тиосульфата натрия по йоду (1 мл раствора соответствует 0,0002538 г йода);  $m$  – навеска масла льна, г.

Оценку антиоксидантной активности экстрактов соцветий (образец № 1), листьев (образец № 2), корней и корневищ (образец № 3) *Polemonium coeruleum* L. проводили на модельной системе (в течении 200 сут), включающей генерацию продуктов перекисного окисления липидов масла льна и систему их детектирования. Введение в систему ингибиторов перекисного окисления (в нашем случае флавоноидсодержащие экстракты, 0,2% в пересчете на кверцетин) вызывало изменение концентрации продуктов перекисидации, что отражалось на физико-химических параметрах детектируемой системы.

Антиоксидантную активность экстрактов регистрировали по уменьшению скорости образования липоперекисей в масле льна и увеличению периода индукции автоокисления по сравнению со стандартом антиоксидантной активности – кверцетином (образец № 4) и контролем – масло льна (образец № 5).



Кинетика ингибирования перекисного окисления льняного масла экстрактивными веществами *Polemonium coeruleum* L.

0,29 ± 0,03 мг/100 г. Начиная с 90-х суток экспозиции наблюдалось повышение ПЧ. Значение последнего составило 0,58 ± 0,03 мг/100 г, что на 44,8% выше по сравнению с образцом № 4 и на 59,1% ниже уровня перекисидации образца № 5.

В точках титрования, соответствующих 110 и 130 сут, произошло наложение кривых перекисидации для образцов № 1 и № 2. Среднее значение ПЧ для обеих систем – 0,97 ± 0,06 мг/100 г. Начиная с 130-х суток зависимость уровня ПЧ от времени экспозиции была прямо пропорциональной. В конечной точке детектирования степень перекисидации была равна 2,06 ± 0,12 мг/100 г, что на 40,3% выше величины в варианте с образцом № 4 и на 34,8% ниже образца № 5.

Кинетика ингибирования перекисного окисления образцом № 2 (см. рисунок) в течение первых 70 сут носила индукционный характер. Среднее значение ПЧ в данном временном интервале составило 0,32 ± 0,02 мг/100 г.

По мере увеличения времени экспозиции антиокислительная активность экстракта монотонно снижалась. На 90-е сутки уровень перекисидации составил 0,47 ± 0,02 мг/100 г, что на 31,9% выше по сравнению с образцом № 4 и на 66,9% ниже, чем у образца № 5. На 110-е и 130-е сутки регистрировали незначительное отличие динамики накопления липоперекисей для образцов № 1 и № 2. Среднее значение ПЧ в данном случае равно 0,97 ± 0,05 мг/100 г, что на 46,9% ниже по сравнению с уровнем перекисидации образца № 5 без добавления антиоксидантов.

В ходе пролонгации времени экспозиции происходило повышение ПЧ до 1,56 ± 0,02 мг/100 г, затем отмечалось сближение кривых зависимостей накопления продуктов перекисидации от длительности инкубации для образцов № 2 и № 3. В конечной точке титрования уровень ПЧ для экстрактивных веществ составил 2,36 ± 0,13 мг/100 г, что ниже уровня перекисидации образца № 5 на 25,3%.

Таким образом, антиоксидантная активность образца № 2 совпала в некоторых точках с активностью образца № 1, на основании чего можно предположить о наличии незначительных отличий в степени ингибирования перекисидации льняного масла экстрактами из надземных органов *Polemonium caeruleum* L.

Для образца № 3 в отличие от образцов № 1 и № 2 характерна наименьшая по длительности фаза индукции – 50 сут. Уровень перекисидации растительных липидов равен 0,33 ± 0,02 мг/100 г в пересчете на ПЧ.

При продлении времени экспозиции до 70 сут наблюдали незначительное снижение уровня ингибирования реакций перекисидации до 0,41 ± 0,02 мг/100 г, что на 19,5% выше по сравнению с образцом № 4. Интенсивность процессов окисления при дальнейшей инкубации возросла и на 90-е сутки достигла 0,92 ± 0,06 мг/100 г, что в среднем на 64,1% выше по сравнению с фазой индук-

Все анализы проводили в четырехкратной повторности, полученные результаты обрабатывали с использованием компьютерной программы Statistica 6.0 (данные считали достоверными при  $P < 0,05$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования влияния образца № 1 на окисление масла льна (рисунок) показали, что ингибирование реакций перекисидации экстрактивными веществами в первых точках детектирования являлось индукционным. Содержание продуктов перекисного окисления жирных кислот для фазы индукции составило

ции. На 110-е сутки экспозиции модельной системы, регистрировали небольшое снижение ПЧ, средний уровень перекисидации составил  $1,00 \pm 0,04$  мг/100 г.

Кривая кинетики ингибирования перекисного окисления липидов начиная с 110-х суток может быть описана уравнением прямой зависимости значения ПЧ от времени экспозиции. Она параллельна аналогичной кривой образца № 1. Уровень перекисидации на временном интервале 130–170 сут составил  $(1,42 \pm 0,07) - (2,04 \pm 0,12)$  мг/100 г, что в среднем на 47,7% выше по сравнению с образцом № 4. В конечной точке титрования значение ПЧ –  $2,48 \pm 0,13$  мг/100 г, что на 21,5% ниже образца № 5. Из анализа кривой кинетики ингибирования процессов перекисного окисления масла льна образцом № 3 следует, что по сравнению со всеми изученными экстрактами он обладает наименьшей антиоксидантной активностью.

### Выводы

В ходе исследования антиоксидантной активности установлено, что экстрактивные вещества, полученные из воздушно-сухого растительного сырья соцветий, листьев, корней и корневищ *Polemonium caeruleum* L., оказывают существенное ингибирующее действие на процессы перекисного окисления пищевого масла льна.

На примере модельной реакции перекисидации льняного масла изучена динамика ингибирования перекисного окисления липидов экстрактами. Установлено, что экстрактивные вещества листьев, корней и корневищ не влияют на индукционную стадию процессов перекисидации, так как время фазы индукции совпадает с аналогичным периодом, выявленным в контроле, и составляет 25,0% от общего времени экспозиции модельной системы. Экстракты, полученные из соцветий, вызвали увеличение индукционного периода на 3,5% по сравнению с контролем.

На основании данных о количественных значениях ПЧ в конечной точке детектирования (200 сут) растительные образцы можно расположить в порядке последовательного возрастания антиокислительной активности следующим образом: корни и корневища < листья < соцветия *Polemonium caeruleum* L. Изученные экстракты могут быть рекомендованы в качестве антиоксидантов, обеспечивающих продление сроков годности пищевого масла льна и продуктов на его основе.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № Б08М-004).

### Литература

1. Denisova, T. G. Handbook of Antioxidants: Bond Dissociation Energies, Rate Constants, Activation Energies / T. G. Denisova. – N. Y.: Boca Raton, 2000. – P. 77–273.
2. Башилов, А. В. Биологическая и фармакологическая характеристика синюхи голубой (*Polemonium coeruleum* L.), обладающей выраженными седативным и гемолитическим действиями / А. В. Башилов, В. Н. Решетников, Л. В. Кухарева // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2007. – № 1. – С. 114–118.
3. Турова, А. Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А. Д. Турова. – М., 1984. – С. 112–114.
4. Косман, В. М. Количественное экстракционно-спектрофотометрическое определение суммарного содержания гидроксикоричных кислот в присутствии флавоноидов в экстрактивных веществах некоторых лекарственных растений / В. М. Косман, И. Г. Зенкевич // Растительные ресурсы. – 2001. – Т. 37. – Вып. 4. – С. 123–129.
5. Здоровенина, А. О. Повышение точности измерения содержания перекисных и карбонильных соединений в жирах: автореф. дис. ... канд. тех. наук. 05.18.06 / А. О. Здоровенина; Всерос. НИИ жиров. – СПб., 2007. – 23 с.
6. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Общие методы контроля качества лекарственных средств / под ред. Г. В. Годовальников. – Минск, 2006. – С. 127–129.

A. V. BASHILOV

### FEATURES OF THE KINETICS OF PEROXIDE OXIDATION OF LIPIDS IN THE PRESENCE OF ANTIOXIDANTS OF PHYTOGENESIS

### Summary

It is established that extracts of leaves, inflorescences, roots and rhizomes of *Polemonium coeruleum* L. render an inhibiting action on the peroxide oxidation of linseed oil. The extracts produced can be recommended as inhibitors of peroxide oxidation of linseed oil with the intent to prolong the period of storage.