Съдържание на общи фенолни вещества и антиоксидантна активност на инфузи от избрани български растения

Даша Михайлова, Лидия Георгиева

Total phenolic content and antioxidant activity of infusions obtained from different Bulgarian plants : *In the present study infusions of nine different plants were prepared and their antioxidant activities measured by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) and ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt assays. The phenolic concentration in the examined extracts ranged from 1.08 to 40.60 mg GAE/g DW. Significant positive correlations demonstrated that the antioxidant effects of the infusions might generally be considered as result of the presence of the phenolic compounds. Among the different water extracts the Cotinus coggygria Scop.*, *Sideritis scardica* L. and *Origanum vulgare* L. *infusions show higher antioxidant activity and total phenolic compounds content.*

Key words: *total phenolic content, antioxidant activity, plant infusions.*

ВЪВЕДЕНИЕ

В народната медицина от векове се използват растения за лечението на различни заболявания. Под формата на подправки в храната, чайове, мазила, запарки и др. като едно и също растение е възможно да се прилага при многобройни и различни болести. Българската флора е разнообразна и е богат източник на лечебни растения, 600 ÷ 3500 вида растения са познати като лекарства [1, 2, 7, 8, 13, 16].

Качеството на природните екстракти и антиоксидантните им свойства зависят не само от естеството на растителния източник, географския произход, климатичните условия, времето на събиране на реколтата и съхранението му, но и от начина на екстракция и самия използван екстрагент [5, 6].

Етанолът и водата са най-широко изполваните разтворители, тъй като дори в голямо количество не причиняват здравословни проблеми. Поради факта, че активността зависи от полифенолните съединения, антиоксидантните анализи, сравнителните изследвания за селекция на оптимален разтворител, осигуряващ максимална антиоксидантна активност се изискват за всеки субстрат. Слабо полярните разтворители, като етилацетат осигуряват незначително по-активни екстракти от водните разтвори на етанол или метанол [18].

Водата широко се използва като екстракционен агент, поради уникалните си свойства на разтваряне, които могат да се променят с промяна на температурата [15]. Именно по тази причина в настоящето изследване е подбрана водата като солвент за получаване на различни растителни екстракти (инфузи). Тяхната антиоксидантна активност и съдържание на общи фенолни вещества са оценени с оглед евентуалното им приложение.

ИЗЛОЖЕНИЕ

Материали и методи

Изследвани са 9 различни български растения закупени в изсушен вид от търговската мрежа на гр. Пловдив: котешка стъпка (*Clinopodium vulgare* L.) – листа и цветове, лайка (*Matricaria chamomilla* L.) – цветове, маточина (*Melissa officinalis* L.) – листа и цветове, мащерка (*Thymus vulgaris* L.) – листа и цветове, мента (*Mentha piperita* L.) – листа и цветове, мурсалски чай (*Sideritis scardica* L.) – листа и цветове, риган (*Origanum vulgare* L.) – листа, салвия (*Salvia officinalis* L.) - листа и цветове, тетра (*Cotinus coggygria* Scop.) – листа.

Изсушените части от всяко растение се смилат в електрическа мелничка. Като видните екстракти (инфузи) се получават след заливане на 0.5 g от растителната суровина с 10 ml кипяща вода до изстиване за 30 min. Следва филтруване и доливане с гореща вода до получаване на общ обем от 30 ml. Екстрактите се

съхраняват при температура 4 ˚С до използването им за анализ, без добавяне на консерванти.

◆ Съдържанието на ОФС в изследваните проби е определено Folin- Ciocalteu с реактива на съгласно метода на Kujala *et al*. [10] с някои модификации. Общото количество на фенолни вещества е изразено като mg галова киселина/g сух растителен материал.

Антиоксидантна активност (АОА) на получените екстракти и определена съгласно следните методи:

◆ Радикал улавящата способност на водните екстракти от различните растения спрямо $ABTS^{\bullet+}$ е определена съгласно метода на Re *et al*. [14] с някои модификации. Тролокс еквивалент антиоксидантен капацитет (TEAC) се дефинира като концентрацията на Тролокс имаща еквивалентна антиоксидантна активност изразена като mM TE на грам суха растителна маса mM TE/g CM).

◆ Способността на екстрактите на отдават електрон и да улавят 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (DPPH) радикала е определено съгласно метода на Brand-Williams *et al*. [4] с леки модификации. Единица Тролокс еквивалент антиоксидантен капацитет (TEAC) се изразява като концентрацията на Тролокс имаща еквивалентна антиоксидантна активност изразена като mM TE на грам суха растителна маса mM TE/g CM).

Всички измервания в настоящето изследване са проведении трикратно. Резултатите, изразени като средна стойност ± стандартното оклонение, са получении след обработка с MS-Excel software.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.

Подбраните растителни видове са често използвани в бита на българите като билки и подправки. Именно под формата на запарка традиционно консумираме билките. Ето защо и точно този вид екстракция бе подбран за настоящето изследване.

Таблица 1. Съдържание на общи фенолни съединения в инфузи на различни растения, mg GAE/g CM

Вид суровина	ОФС
Тетра	40.60
Лайка	1.08
Мащерка	11.91
Маточина	14.91
Мента	11.65
Салвия	3.69
Риган	30.17
Мурсалски чай	8.13
Котешка стъпка	8.78

На таблица 1 е представено съдържанието на общи фенолни съединения на различни билки, екстрахирани с гореща вода до тяхното изстиване в рамките на 30 минути, изразено като mg GAE/g суха растителна маса. Съдържанието на общи фенолни съединения сред получените водни екстракти е в границите от 1.08 до 40.60 mg GAE/g CM. Става ясно, че от изследваните суровини най-високо съдържание на общи феноли съединения се установява при тетрата и ригана - 40.60 и 30.17 mg GAE/g CM, съответно. Докато най-ниско такова е отчетено при лайката – 1.08 mg GAE/g CM.

Въз основа на връзката между съдържание на полифенолни вещества и АОА установена от много автори [11, 12, 17] бе взето решение да се задълбочават

изследванията на база установено наличие на общи фенолни вещества в получените растителни инфузи. Ето защо бе проучена и антиоксидантната им активност.

Съществуват разнообразни методи за определяне на *in vitro* антиоксидантната активност. Това се дължи преди всичко на различните механизми на действие на антиоксидантите. На таблица 2. са отразени резултатите от антиоксидантната активност на получените водни екстракти чрез прилагане на подбраните за целта два метода: чрез инхибиране на DPPH и ABTS синтетичните радикали.

В литературата съществуват множество изследвания, които установяват, че редица растителни екстракти проявяват силен инхибиращ ефект спрямо DPPH$^{\bullet}$ [3, 9]. В настоящата разработка се установяват TEAC-стойности от 1.40 до 5.42 mM TE/g CM спрямо DPPH$^{\bullet}$. Наблюдава се потвърждение на установеното при анализа за съдържание на общи фенолни вещества, а именно че най-висок антиоксидантен потенциал е установен при инфузите на тетрата - 5.42 mM TE/g CM.

Таблица 2. Антиоксидантна активност на инфузи на подбрани растения, mM TE/g CM

Вид суровина	$TEAC_{DPPH^{\bullet}}$	$TEAC_{ABTS^{\bullet+}}$
Тетра	5.42	2.65
Лайка	1.40	0.08
Мащерка	3.26	0.43
Маточина	4.50	1.00
Мента	3.87	0.38
Салвия	1.40	0.31
Риган	5.00	1.03
Мурсалски чай	2.21	0.31
Котешка стъпка	4.33	0.80

По ABTS метода също е определен антиоксидантния потенциал на водните екстракти, изразен като mM TE/g CM. От проведените експерименти с най-висок антиоксидантен потенциал сред инфузите се откроява тетрата с 2.65 mM TE/g CM. За останалите билки антиоксидантният потенциал е по-нисък и е в границите от 0.08 до 1.03 mM TE/g CM. Наблюдава се потвърждение на установеното при анализа за съдържание на общи фенолни вещества, а именно че най-висок антиоксидантен потенциал е установен при инфузите на тетрата, следвана от инфузите на риган, маточина и котешка стъпка. Въз основа на това антиоксидантната активност на изследваните растителни водни екстракти вероятно може да се дължи на съдържанието на фенолни вещества във всеки от тях. Това заключение е очаквано, тъй като подобни наблюдения са докладвани в голям брой от предишни изследвания.

Освен това, е проведен и количествен анализ за изследване на връзката между установеното антиоксидантно действие и съдържащите се в различните екстракти фенолни вещества.

Таблица 3. Корелационни коефициенти (r) отразяващи връзката между анализите

	DPPH	ABTS
ОФС	0.7547	0.9262
DPPH		0.6379

Таблица 3 показва коефициентите на корелация (r) между двата анализа за антиоксидантна активност и съдържанието на фенолни вещества. Както е показано, значителни положителни корелации (r=0.9262, 0.7547 и 0.6379) се наблюдават

между общото фенолно съдържание и TEAC за DPPH и ABTS, което показва значителния принос на фенолните вещества при тези анализи. Отчетените положителни корелации показват, че антиоксидантно действие на изследваните инфузи може да се разглежда като резултат от наличието на фенолни съединения в тях. Какви конкретно са тези вещества следва да бъде обект на задълбочен анализ в последващи научни изследвания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящето изследване са проучени антиоксидантните свойства на девет различни водни екстракта получени от широко прилагани в практиката растителни видове. Проучено е също и съдържанието на общи фенолни вещества в тях.

Сред изследваните растения с най-висока антиоксидантна активност се открояват инфузите на тетрата (*Cotinus coggygria* Scop.), риган (*Origanum vulgare* L.) и мурсалски чай (*Sideritis scardica* L.). Установява се и значителна корелация между установното присъствие на фенолни вещества в пробите и проявената антиоксдантна активност, което предполага и тяхната роля.

Получените резултати разкриват възможността за използване на изследваните растения като естествени източници на антиоксиданти, които могат да бъдат полезни за здравето.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Ахтаров,В., Материали за български ботанически речник, БАН, София, 1939, 575.

[2] Димков,П. Българска народна медицина, БАН, София, 1979, 677.

[3] Barbut S., J. Josephson, Antioxidant properties of rosemary oleoresin in turkeys meat. Food Science, 1985, 50, 1356 -1363.

[4] Brand-Williams,W., M.E.Cuvelier, C.Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - Food Science & Technology, 28, 1995, 25 - 30.

[5] Cuvelier,M.E., H.Richard, C.Berset, Antioxidative activity and phenolic composition of pilot – plant and commercial extracts of sage and rosemary. Journal of the American Oil Chemists Society, 73, 1996, 645 - 652.

[6] Hagerman,A.E., K.M.Riedl, G. A.Jones, K.N.Sovik, N.T.Ritchard, P.W.Hartzfeld, T.L.Riechel, High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 1998, 1887 – 1892.

[7] Iordanov,D., P.Nikolov, A.Boichinov, Phytotherapy in Bulgaria, Meditzina I Phyzkultura, Sofia, 1969, 360.

[8] Kitanov,B., Bulgarian Folk Medicine, vol. 3, 1953, 251.

[9] Korczak,J., E.Flaczuk, Z.Pazola, Effect of spices on stability of minced meat products kept in cold storage. Fleischwirtschaft,1988, 68, 64 - 68.

[10] Kujala,T.S., J.M.Loponen, K.D.Klika, K.Pihlaja, Phenolics and betacyanins in red beetroot (Beta vulgaris) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 2000, 5388-5342.

[11] Mihaylova,D., S.Bahchevanska, V.Toneva. Examination of the antioxidant activity of Haberlea rhodopensis leaf extracts and their phenolic constituents, Journal of Food Biochemistry, 2011 doi:10.1111/j.1745-4514.2011.00609.x.

[12] Okudu,T., T.Yoshida, T.Hatano, in: C.T. Ho, T.Osawa, M.T.Huang, R.T.Rosen (Eds.), Food phytochemicals for cancer prevention II, Chemistry and antioxidative effects of phenolic compounds from licorice, tea and Compositae and Labiateae herbs, American Chemical Society Washington, DC, 1994, pp. 132-143.

[13] Petkov,V., Modern Phytotherapy, Meditzina, Sofia, 1982, 516.

[14] Re,R., N.Pellegrini, A.Proteggente, A.Pannala, M.Yang, C.A.Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26, 1999, 1231-1237.

[15] Rovio,S., K.Hartonen, Y.Holm, R.Hiltunen, M.L.Riekkola, Ectraction of clove using pressurized hot water. Flavor and fragrance journal, 14, 1999, 399-404.

[16] Stojanov,N., B.Stefanov, B.Kitanov, Bulgarian Flora, Nauka I Izkustvo, Sofia, 1967, 1324.

[17] Tepe,B.,M.Sokmen, H.A.Akpulat, A.Sokmen, Screening of the antioxidant potentials of six Salvia species from Turkey, Food Chemistry, 95, 2006, 200-204.

[18] Tsuda T., M.Watanabe, K.Ohshima, A.Yamamoto, S.Kawakishi, T.Osawa, Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (Tamarindus indica L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 1994, 2671-2674.

За контакти:

гл. ас. д-р Даша Михайлова, Катедра “Биотехнологии”, Университет по хранителни технологии, гр. Пловдив, тел.: 0898 742 397, e-mail: dashamihaylova@yahoo.com.

Докладът е рецензиран