

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2011 № 2

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2011 № 2

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

Павловский Н. Б., Дрозд О. В. Оценка регенерационной способности зеленых черенков интродуцированных в Беларуси сортов голубики (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	5
Башилов А. В. Ингибирование накопления гидропероксидов в льняном масле экстрактами лабазника шестилепестного (<i>Filipendula hexapetala</i>)	10
Бородич Г. С. Особенности сезонного развития сортов бородатых ирисов (Bearded irises) при интродукции в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси	14
Завадская Л. В. Коллекционный фонд нарциссов (<i>Narcissus</i>) Центрального ботанического сада НАН Беларуси	18
Булыко С. Е. Особенности прорастания семян видов рода <i>Syringa</i>	24
Волынец А. П., Шуканов В. П., Гриб С. И. Механизмы ингибирующего действия физиологически активных веществ на предуборочное прорастание зерновок тритикале	28
Segovia J. F.O., Oliveira V. L., Gonçalves M. C. A., Resck I. S., Silva C. A. M., Silveira D., Gavrilov A. V., Gavrilova L. A., Kanzaki L. I. B. Botanical characterisation, geographical distribution and phytochemistry analysis of <i>Manilkara huberi</i> (Ducke) Stanhl autochthonous in Amapa state, Brazil.	34
Ермишина Н. М., Кременевская Е. М., Гукасян О. Н., Лемеш В. А. Повышение завязываемости семян при получении отдаленных гибридов озимых гексаплоидных тритикале (<i>Triticale Thcherm.</i>) с пшеницей (<i>Triticum aestivum</i>)	41

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES 2011 N 2

FOUNDER IS THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

The Journal has been published since January 1956

Issued four times a year

CONTENTS

Pavlovski N. B., Drozd O. W. Assessment of the regeneration ability of green cuttings of introduced cultivars of blueberry (<i>Vaccinium corymbosum</i>) in Belarus	5
Bashylau A. V. Inhibition of accumulation hydroperoxides in linseed oil by extracts <i>Filipendula hexapetala</i>	10
Borodich G. S. Peculiarities of seasonal development of varieties of bearded irises (Bearded irises) at its introduction in Central Botanical Garden of NAS of Belarus.	14
Zavadskaya L. V. The collection fund of the Narcissus of the Central Botanical Garden of NAS of Belarus	18
Bulyka S. E. Features of germination of seeds of various species of genus <i>Syringa</i>	24
Volynets A. P., Shykanov V. P., Grib S. I. Inhibited impacts activity of physiologically active substances on pre-harvesting germination of triticale seeds	28
Segovia J. F. O., Oliveira V. L., Gonçalves M. C. A., Resck I. S., Silva C. A. M., Silveira D., Gavrillov A. V., Gavrilova L. A., Kanzaki L. I. B. Botanical characterisation, geographical distribution and phytochemistry analysis of <i>Manilkara huberi</i> (Ducke) Stanhl autochthonous in Amapa state, Brazil	34
Yermishina N. M., Kremenevskaya E. M., Gukasian O. N., Lemesh V. A. Improving seed-set in interspecific hybridization between triticale (<i>Triticale Thechem.</i>) and wheat (<i>Triticum aestivum</i>)	41
Orlovskaya O. A., Sakovich V. I., Guzenko Ye.V. Callusogenesis in flax (<i>Linum usitatissimum</i>)	45
Mikhailova M. E., Belaya Ye.V. DNA-typing of milk productivity traits in holstein cattle for polymorphic gene variants of somatotropin cascade bPit-1 and bPr1.	49
Zhornik E. V., Baranova L. A., Emelyanova V. P., Volotovskiy I. D. Activation of lipid peroxidation and antioxidant protection violation in human lymphocytes under the influence of carbon nanotubes	54
Shcherbakov R. A., Domanskaja I. N., Radyk M. C., Shalygo N. V. Influence of waterlogging on growth and reactive oxygen species accumulation and antioxidative system in green barley seedlings (<i>Hordeum vulgare</i>)	58
Letkevich L. L., Gandja A. I., Lobanok E. S., Nikolskaya V. P., Vasilevich I. B., Simonenko V. P. Influence of cryopreservation conditions on structurally functional condition of frozen-thawed of bovine oocytes	64
Goncharik R. G., Domanskii V. P. Fluorescent biosensor on the basis of green alga <i>Chlorella vulgaris</i>	69
Shcharbin D. G., Loznikova S. G., Kulchitsky V. A. Investigation of trypsin effect on internal dynamics of membrane proteins cell tissues spinal cord of rats.	73

УДК 582.71:581.19

А. В. БАШИЛОВ

ИНГИБИРОВАНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ГИДРОПЕРОКСИДОВ В ЛЬНЯНОМ МАСЛЕ ЭКСТРАКТАМИ ЛАБАЗНИКА ШЕСТИЛЕПЕСТНОГО (*FILIPENDULA HEXAPETALA*)

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail:anton.bashilov@gmail.com

(Поступила в редакцию 22.03.2010)

Введение. Льняное масло характеризуется высоким содержанием незаменимых жирных кислот групп Омега-3 и Омега-6, главным образом α -линоленовой кислоты. Употребление масла в пищу нормализует функционирование сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной, гормональной и других систем организма. Однако большое содержание полиненасыщенных жирных кислот обуславливает низкую окислительную стабильность льняного масла, изменение его органолептических свойств за короткое время хранения, а значит невозможность его длительного хранения. Известные технологии не обеспечивают достаточной устойчивости льняного масла к пероксидному окислению.

В настоящее время для масел и жиров используют в основном синтетические антиоксиданты. При стабилизации льняного масла применяют, например, такие группы веществ, как ароматические оксиамины, производные гидроксихинолина и фенилендиамин, хинонимины, производные гидрохинона, фосфоновые кислоты и целый ряд других соединений, ингибирующих развитие свободнорадикальных процессов.

В качестве источника природных антиоксидантов может использоваться растительное сырье, имеющее доступную сырьевую базу на территории Республики Беларусь и не требующее специальных агротехнических приемов культивирования, например лабазник шестилепестный. Антиоксидантные свойства растительных экстрактов главным образом обусловлены наличием в их составе фенольных соединений, центром реакции у которых служит фенольная гидроксильная группа с пространственным барьером, созданным метиловой, *i*-пропиловой или *t*-бутиловой группой в α -позиции, которая обрывает цепную реакцию самоокисления [1].

Лабазник шестилепестный (*Filipendula hexapetala* Gilib.) содержит в своем составе широкий спектр физиологически активных соединений, основными из которых являются фенольные соединения и производные салициловой кислоты, а также активно используется в официальной и народной медицине как лекарственное средство широкого фармакологического действия [2].

Цель работы – изучить антиоксидантную активность (АОА) экстрактов, полученных из соцветий, листьев, корней и корневищ лабазника шестилепестного в качестве средств, ингибирующих процесс перекисидации льняного масла.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали растительное сырье *Filipendula hexapetala* Gilib., культивируемое в коллекции пряно-ароматических и лекарственных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

Сушку растительного материала проводили воздушно-теневым способом, в хорошо вентилируемых помещениях, без доступа прямых солнечных лучей. Потери массы при высушивании различных органов составили: для соцветий – 70–80 %; листьев – 55–90 %; корней и корневищ – 60–80 %. Сушка считалась законченной при содержании в сырье 10–15 % гигроскопической влаги [3, 4].

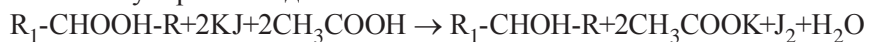
Для получения флавоноидсодержащих экстрактов в колбу объемом 150 мл помещали 1 г растительного сырья и добавляли 30 мл 90%-ного спирта, содержащего 1 % концентрированной

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 ротаторном испарителе до получения сухого экстракта [5].

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

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

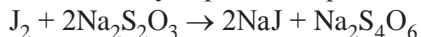
1) гомогенное окисление йодида калия гидропероксидами с образованием вторичных спиртов и выделением молекулярного йода:



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:

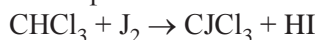


2) диспропорционирование йода:



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

3) реакции замещения в органической фазе:



Все побочные реакции протекают в очень малой степени и незначимы для измерения ПЧ [6].

Эксперименты проводили по доработанной методике А. О. Здоровениной, регламентированной Государственной Фармакопеей Республики Беларусь в уксусно-хлороформной среде. 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 также контрольное титрование (без масла).

Значение ПЧ (количество граммов йода, выделенное гидропероксидами, содержащимися в 100 г масла) рассчитывали по уравнению:

$$ПЧ = (c - o) \cdot k \cdot 0,0002538 \cdot 100 / m,$$

где c – объем 0,002 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный при контрольном определении, мл; 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 – масса масла льна, г [6].

Все анализы проводились в четырехкратной повторности, полученные результаты обрабатывались с использованием компьютерной программы Statistica 6.0, данные считали достоверными при $P < 0,05$. Величины расхождения между исследуемыми данными в выборке и генеральной совокупности рассчитывали с использованием статистической ошибки для среднего. Диапазон, в котором с заданной вероятностью находились исследуемые величины для генеральной совокупности, рассчитывали с помощью доверительного интервала для среднего [7].

Результаты и их обсуждение. Оценку АОА экстрактов лабазника шестилепестного проводили на модельной системе, включающей генерацию продуктов пероксидного окисления липидов и их

детектирования. Введение в реакционную среду ингибиторов пероксидного окисления (в нашем случае – флавоноидсодержащие экстракты, 0,2 %) вызывало изменение концентрации продуктов пероксидации, что отражалось на физико-химических параметрах детектируемой системы.

В качестве источника продуктов пероксидации льняного масла использовали систему его пероксидного окисления. В основе механизма работы системы лежит процесс, приводящий к появлению в среде инкубации пероксидных соединений ненасыщенных жирных кислот – липопероксидов, являющихся ключевыми продуктами, обуславливающими реализацию цепного механизма пероксидного окисления. Содержание липопероксидов детектировали по изменению значений ПЧ.

АОА экстрактов регистрировали по уменьшению скорости образования липопероксидов в масле льна и увеличению периода индукции автоокисления по сравнению с контролем (масло льна) и стандартом АОА – кверцетином.

Кинетика пероксидного окисления масла льна представлена на рисунке. Период индукции пероксидации в среднем составил 50 сут, что вдвое короче стандарта АОА – кверцетина. После 50-суточной инкубации скорость образования липопероксидов увеличилась и составила $1,42 \pm 0,05$ мг/100 г. Начиная с 90-х суток экспозиции среднее значение уровня пероксидации составило $1,49 \pm 0,07$ мг/100 г. На 110-е сутки инкубации *in vitro* регистрировали скачок уровня окисления масла льна согласно значению ПЧ. Так, в точке, соответствующей 110 сут, уровень пероксидации составил $1,56 \pm 0,06$ мг/100 г, тогда как в точке, адекватной 200 сут, он достиг $3,16$ мг/100 г.

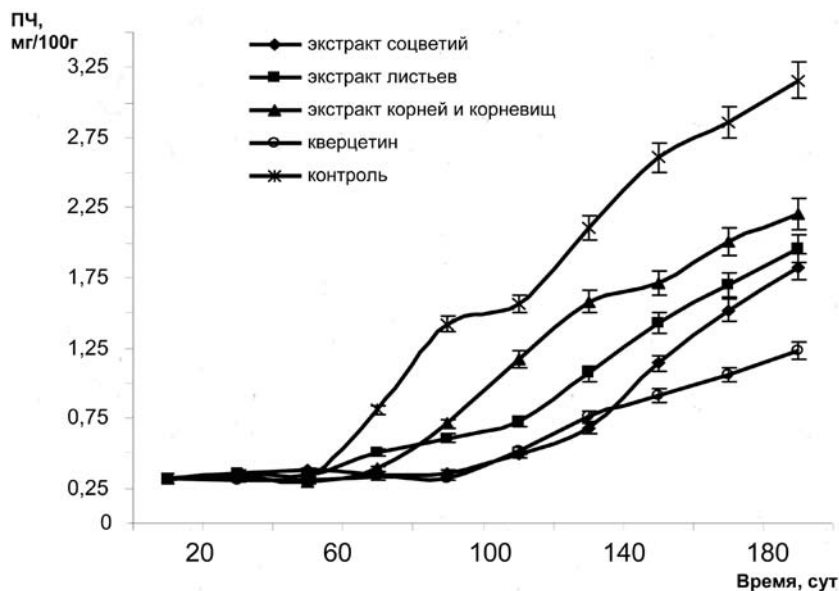
Результаты исследований АОА флавоноидсодержащего экстракта соцветий *Filipendula hexapetala* Gilib. представлены на рисунке. Индукционный период ингибирования пероксидации составил 90 сут и схож с аналогичным периодом, протекающим в присутствии кверцетина. Значение ПЧ в начальной фазе достигло $0,35 \pm 0,02$ мг/100 г, что на 45,5 % выше по сравнению с контролем. Увеличение времени экспозиции до 130 сут вызвало повышение накопления липопероксидов до $0,68 \pm 0,05$ мг/100 г, что ниже по сравнению с кверцетином на 8,6 %. В точке экспозиции, соответствующей 140 сут, происходило наложение координат пероксидации, протекающих в условиях кверцетина и экстракта с последующим ростом содержания липопероксидов в среде инкубации. Затем АОА *in vitro* снижалась, что не могло не сказаться на концентрации продуктов пероксидации. В точке «50 сут» ПЧ составило $1,14 \pm 0,11$ мг/100 г, а в конечной точке инкубации (200 сут) – $1,83 \pm 0,11$ мг/100 г, что на 32,7 % выше по сравнению с кверцетином.

Кинетика ингибирования пероксидного окисления масла льна экстрактивными веществами листьев лабазника шестилепестного свидетельствует об аналогии результатов, полученных в контрольном и стандартном вариантах (рисунок). Начиная с точки «50 сут» регистрировали накопление липопероксидов. На 70-е сутки уровень продуктов пероксидации достиг $0,50 \pm 0,03$ мг/100 г в пересчете на ПЧ.

При пролонгации времени экспозиции до 110 сут наблюдалось повышение интенсивности накопления продуктов пероксидации *in vitro*. В точке титрования, соответствующей 130 сут, ПЧ составило $1,07 \pm 0,05$ мг/100 г, а в конечной точке «200 сут» – $1,96 \pm 0,11$ мг/100 г, что на 37,2 % выше по сравнению с кверцетином и на 37,9 % ниже процессов пероксидации, протекающих в условиях контроля. Основываясь на полученных выше результатах, можно заключить, что экстрактивные вещества листьев *Filipendula hexapetala* Gilib. уступают по АОА соцветиям (рисунок).

Индукционный период ингибирования пероксидного окисления липидов экстрактом корней и корневищ лабазника шестилепестного регистрировали в течение первых 50 сут. Среднее значение ПЧ для данного периода составило $0,31 \pm 0,02$ мг/100 г. Увеличение времени инкубации вызвало снижение АОА экстракта, что отразилось на уровне пероксидации. В точке «70 сут» значение ПЧ достигало $0,39 \pm 0,03$ мг/100 г, что на 15,4 % выше по сравнению с опытами, использующими кверцетин, и на 51,8 % ниже контроля.

Начиная с 70-х суток регистрировали повышение содержания липопероксидов *in vitro*. В точке титрования «110 сут» детектировали уровень пероксидации жирных кислот, равный $1,17 \pm 0,07$ мг/100 г в пересчете на ПЧ. Максимум пероксидации соответствовал точке 130 сут, где он составил $1,58 \pm 0,09$ мг/100 г, что на 51,9 % выше по сравнению с антиокислителем – кверцетином и на 25,1 % ниже контроля. При дальнейшем увеличении времени инкубации модельной системы наблюдали затухание процессов пероксидации, среднее значение которых фиксировалось на уровне $1,64 \pm 0,07$ мг/100 г в пересчете на ПЧ. Затем регистрировали вторичное повышение уровня пероксидации и в конечной точке титрования (200 сут) ПЧ составило $2,21 \pm 0,11$ мг/100 г (рисунок).



Кинетика ингибирования пероксидного окисления масла льна экстрактами *Filipendula hexapetala* Gilib.

Из всего вышеизложенного следует, что АОА экстрактивных веществ подземной части *Filipendula hexapetala* Gilib. уступает таковой, отмеченной для экстрактов листьев и соцветий.

Обобщая полученные экспериментальные данные, можно отметить, что на примере модельной системы пероксидного окисления масла льна дана оценка АОА экстрактивных веществ, полученных из воздушно-сухого растительного сырья соцветий, листьев и подземных органов лабазника шестилепестного.

Заключение. Изучена кинетика ингибирования накопления гидропероксидов в масле льна в присутствии растительных экстрактов *Filipendula hexapetala* Gilib. На основании значений уровня пероксидации в конечной точке детектирования (200 сут) растительные образцы можно расположить в порядке возрастания их АОА: корни и корневища < листья < соцветия. Можно предположить перспективность использования в качестве стабилизатора льняного масла сухих экстрактов, полученных из *Filipendula hexapetala* Gilib.

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

Литература

1. Зубцов В. А., Осипова Л. Л., Лебедева Т. И., Маслов М. А. // Материалы Междунар. науч.-практ. конф.: Высокоэффективные технологии производства и переработки льна. Вологда, 2002. С. 234–235.
2. Башилов А. В. // Весці НАН Беларусі. Сер. бія. навук. 2009. № 4. С. 111–114.
3. Годовальников Г. В. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Общие методы контроля качества лекарственных средств. Мн., 2006. С. 228, 242–245.
4. Ананьева А. Р. Государственная фармакопея СССР. М., 1987. Т. 2. С. 381.
5. Косман В. М., Зенкевич И. Г. // Раст. ресурсы. 2001. Т. 37, вып. 4. С. 123–129.
6. Здорovina А. О. Повышение точности измерения содержания перекисных и карбонильных соединений в жирах: Автореф. дис. ... канд. тех. наук. СПб., 2007.
7. Рокцкий П. Ф. Биологическая статистика. Мн., 1967.

A. V. BASHYLAU

INHIBITION OF ACCUMULATION HYDROPEROXIDES IN LINSEED OIL BY EXTRACTS FILIPENDULA HEXAPETALA

Summary

The extracts obtained from leaves, inflorescences, roots and rhizomes of *Filipendula hexapetala* Gilib. inhibit the accumulation of hydroperoxides in linseed oil. These extracts can be recommended as a stabilizer of linseed oil in order to prolong the duration of its storage.