

ВПЛИВ УМОВ ЗРОСТАННЯ НА ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ *PLANTAGO MAJOR L.*

Довгопола К.А., Гаркава К.Г.
Національний авіаційний університет
пр. Космонавта Комарова, 1, 03058, Київ
salashna@ukr.net

Наведено результати жирнокислотного складу ліпідів подорожника великого та ідентифікації флавоноїдів хроматографічним методом, вмісту біологічно активних речовин залежно від умов зростання рослини. Встановлено коефіцієнти техногенної концентрації важких металів у зразках ґрунту та інтенсивність міграції поллютантів із ґрунту в рослини за допомогою коефіцієнту біологічного поглинання. *Ключові слова:* рослинна сировина, флавоноїди, ліпіди, важкі метали, фітомоніторинг навколишнього середовища.

Влияние условий произрастания на содержание биологически активных компонентов *Plantago major L.* Довгополая Е.А., Гаркава Е.Г. Приведены результаты жирнокислотного состава липидов подорожника большого и идентификации флавоноидов хроматографическим методом, содержания биологически активных веществ в зависимости от условий произрастания растения. Установлены коэффициенты техногенной концентрации тяжелых металлов в образцах почвы и интенсивность миграции поллютантов из почвы в растения с помощью коэффициента биологического поглощения. *Ключевые слова:* растительное сырье, флавоноиды, липиды, тяжелые металлы, фитомониторинг окружающей среды.

Effect of growth conditions on content bioactive components *Plantago major L.* Dovgopola K.A., Garkava K.G. The results of fatty acid composition of large plantain lipids and identification of flavonoids by chromatographic method are presented. The content of biologically active substances from plant growth conditions. The coefficients of the technogenic concentration of heavy metals in soil samples and the intensity of migration of pollutants from the soil in plants by means of the coefficient of biological absorption are established. *Key words:* herbs, flavonoids, lipids, heavy metals, phyto environmental monitoring.

Постановка проблеми. Вивчення забруднення природного середовища – важливий напрям досліджень, оскільки нагромадження важких металів у ґрунті і рослинах – один із показників забруднення атмосфери і середовища загалом.

Рослини являють собою цінний природний ресурс, який відіграє важливу роль не лише у функціонуванні природних екосистем, але і є джерелом рослинної харчової, лікарської і кормової сировини. Проводячи збір лікарських рослин, необхідно враховувати не лише строки збирання лікарської сировини, а й екологічний стан цієї території, адже якісно-кількісний склад біологічно активних речовин у рослинах залежить від умов, в яких вони проростають.

Отже, визначення вмісту і виявлення чинників акумуляції важких металів у рослинах важливі не тільки у зв'язку з фітомоніторингом стану природних фітоценозів, але й з погляду безпеки здоров'я людини.

Актуальність дослідження. Проблема забруднення ґрунтів та навколишнього середовища України важкими металами досить актуальна та належить до пріоритетних напрямів державної політики, що визначено Стратегією сталого розвитку «Україна–2020».

Беручи до уваги здатність до біоаккумуляції і мутагенні ефекти важких металів, забруднення ними доквілля є небезпечним явищем, тому ресурсні

дослідження і заготовки рослинної сировини мають супроводжуватися хімічним аналізом на забруднюючі речовини.

Дослідження адаптації рослин, що зростають на території поблизу аеродромів дає змогу з'ясувати рівень надходження через ґрунт до рослин важких металів і рівень біологічної стійкості рослин до забруднення.

Для того щоб вивчити резистентність рослинного організму в залежності від умов середовища, було досліджено вміст флавоноїдів та жирнокислотний склад ліпідів подорожника великого.

Подорожник великий використовуються в офіційній медицині з метою отримання фітопрепаратів, тому аналіз вмісту в них важких металів та біологічно активних сполук є актуальним [1].

Флавоноїди – одні з найбільш різноманітних і поширених груп фенольних сполук. Ця група речовин має велике теоретичне і практичне значення. Більшість флавоноїдів застосовують у медичній практиці як речовини, що мають жовчогінну, діуретичну та інші дії.

Зміни умов середовища відображаються на кількісних показниках біологічно активних речовин, зокрема ліпідів. Усі метаболічні процеси рослин є надзвичайно динамічними, потужним засобом регуляції продуктивності рослин, у тому числі за дії абіотичних стресів є ліпіди. Ліпіди – одні з головних

компонентів біологічних мембран, які взаємодіють із середовищем.

Новизна. Проведена кількісна оцінка вмісту та коефіцієнту техногенної концентрації важких металів у ґрунтах на території, прилеглої до аеродрому «Жуляни» Київської області та Ніжинського аеродрому Чернігівської області. Досліджено вміст біологічно активних речовин у зразках рослинної сировини. Для території прилеглої до Ніжинського аеродрому Чернігівської області ці дослідження проводяться вперше.

Метою нашої роботи було дослідити рівень накопичення екоотоксикантів у ґрунті та подорожнику великому (*Plantago major L.*), встановити зміни параметрів біологічно активних речовин у рослинній сировині для визначення рівня адаптації рослини до дії антропогенного навантаження.

Виклад основного матеріалу. Зразки були зібрані на території, прилеглої до аеродрому «Жуляни» Київської області та Ніжинського аеродрому Чернігівської області.

Листя подорожника великий збирали на досліджувальних територіях із дотриманням вимог збирання та підготовки рослинної сировини, встановлених у фармакогнозії [2; 3].

Вміст важких металів (Cd, Zn, Pb, Cu) у ґрунті визначали з використанням 1н HCl, у рослині – HNO₃ (1:1) на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 [4].

Для оцінки забрудненості ґрунтів було використано коефіцієнт техногенної концентрації K_c. Величина K_c свідчить про активність процесів вилуговування (K_c < 1) і накопичення (K_c > 1) хімічних елементів у ґрунті [5].

Для визначення інтенсивності міграції важких металів із ґрунту в рослини використано коефіцієнт біологічного поглинання K_{бп} [6].

Хроматографування досліджуваних зразків проводили на рідинному хроматографі HPLC-system, ser.20, обладнаному діодматричним детектором

в таких умовах:

- колонка Phenomenex Luna C18(2), розміром 250 мм x 4,6 мм, розмір часток 5 мкм;
- температура колонки – 35 °С;
- довжина хвилі детектування – 330 нм (для гідроксикоричних кислот, глікозидів флавоноїдів), 370 нм (для агліконів флавоноїдів), 280 нм (для дубильних речовин);
- швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв;
- об'єм проби, що вводився – 5 мкл;

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та за відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам.

Розрахунки проводили за формулою, % (без врахування вмісту вологи):

$$X, \% = \frac{A_{pr} \times m_{st} \times V_{pr} \times P \times 100}{A_{st} \times V_{st} \times m_{pr} \times 100},$$

де A_{pr} – площа піку речовини на хроматограмі досліджуваного розчину; A_{st} – площа піку речовини на хроматограмі стандартного розчину; m_{st} – маса стандартного зразка речовини в стандартному розчині, мг; m_{pr} – маса препарату, мг; V_{pr} – розведення досліджуваного розчину, мл; V_{st} – розведення стандартного розчину, мл; P – активність стандарту, %.

Усі використовувані реактиви відповідали вимогам ДФУ, їх розчини готували відповідно до цих вимог [7].

Вміст вищих жирних кислот ліпідів у рослинній сировині проводився за допомогою біохімічного методу на газорідинному хроматографі «Цвет – 500» в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізаційним детектором [8].

Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів здійснювали за методом нормування площ піків і визначення частки жирних кислот ліпідів та виражали у відсотках (%). Похибка визначених показників становила ±10 %.

Отримані дані дослідження за результатами аналізу вмісту важких металів у зразках ґрунту та *Plantago major L.* представлені в таблицях 1–2.

Таблиця 1

Вміст важких металів у зразках ґрунту

Місце відбору проб ґрунту	Cu		Zn		Pb		Cd	
	мг/кг	K _c	мг/кг	K _c	мг/кг	K _c	мг/кг	K _c
Київ «Жуляни»	5,37	0,26	12,8	0,26	12,68	1,27	0,34	0,68
Ніжин САЗ	2,4	0,12	19,46	0,4	12,7	1,3	0,17	0,34
Фоновий вміст	20	–	50	–	10	–	0,5	–
ГДК	55	–	100	–	32	–	3	–

Таблиця 2

Вміст важких металів у зразках *Plantago major L.*

Місце відбору зразків	Мідь (мг/кг)		Цинк (мг/кг)		Свинець (мг/кг)		Кадмій (мг/кг)	
	1x	K _{бп}	1x	K _{бп}	1x	K _{бп}	1x	K _{бп}
Київ «Жуляни»	5,93±0,4	1,1	27,9±1,8	2,17	4,22±0,2	0,33	0,6±0,04	1,76
Ніжин САЗ	8,34±0,8	3,47	28,52±1,5	1,46	6,94±0,4	0,5	0,52±0,03	3
ГДК	5,0	–	10,0	–	5,0	–	10,0	–

Проведені дослідження виявили, що на обстежених ділянках вміст поллютантів не перевищує гранично-допустимих концентрацій. Внаслідок розрахунку K_c виявлено, що цей показник для Cu, Zn і Cd не перевищує одиницю і коливається в межах 0,12–0,68, тобто ці елементи вилугуюються із ґрунту. Лише для Pb $K_c > 1$, отже, відбувається процес його накопичення.

Результати досліджень показали, що вміст важких металів у рослинній сировині перевищує гранично-допустимі концентрації, це свідчить про високий рівень акумуляції іонів металів. Згідно з даними КБп, інтенсивність накопичення металів рослинами в середньому можна розташувати у такому порядку $K_{оп} Cd > K_{оп} Cu > K_{оп} Zn > K_{оп} Pb$.

Для того щоб вивчити адаптаційний потенціал, зокрема рослинного організму, треба знати, якою є реакція організму на відхилення того чи іншого фактора від норми, які механізми сприяють пристосуванню до мінливих умов середовища. Велику роль у процесі адаптації до дії антропогенного навантаження, в тому числі до підвищеного вмісту важких металів відіграють біологічно активні сполуки первинного обміну. Зміни умов середовища відображаються на кількісних показниках біологічно активних речовин.

Після аналізу хроматограм та проведення ідентифікації компонентів та їх піків поглинання з низки флавоноїдів було ідентифіковано 7 фенольних сполук: галова кислота, хлорогенова кислота, кавава кислота, розмаринова кислота, рутин, кверцетин та кемферол.

Між пробами, взятими з аеродрому Київ «Жуляни» та Ніжинського аеродрому, відмінностей за відсотковим вмістом флавоноїдів не виявлено.

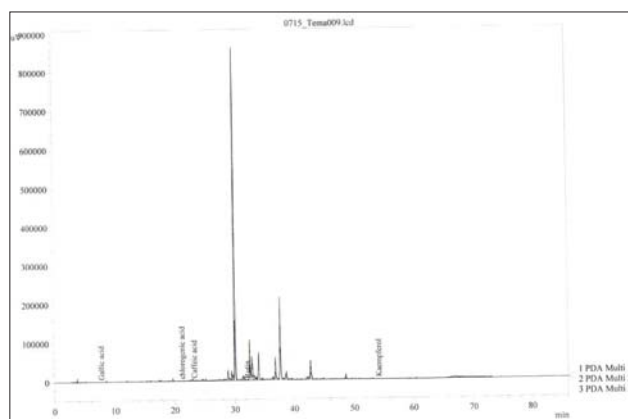


Рис. 1. Хроматограма вмісту флавоноїдів *Plantago major L.*, який зростає на території, прилеглої до аеродрому «Жуляни» Київської області

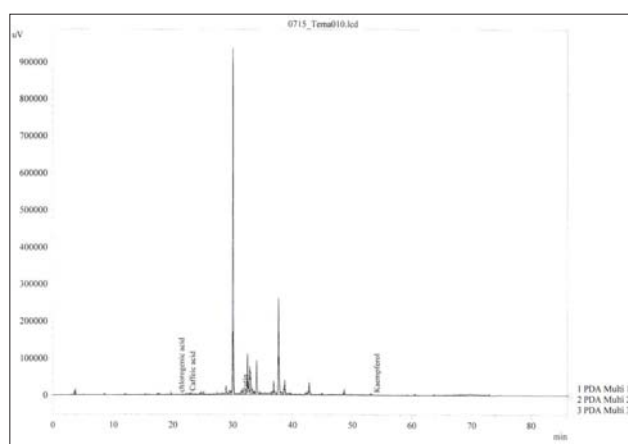


Рис. 2. Хроматограма вмісту флавоноїдів *Plantago major L.*, який зростає на території, прилеглої Ніжинського аеродрому Чернігівської області

Таблиця 3

Вміст флавоноїдів у зразках *Plantago major L.*

Місце відбору зразків	Вміст флавоноїдів у сировині, %						
	Галова кислота	Хлорогенова кислота	Кавава кислота	Розмаринова кислота	Рутин	Кверцетин	Кемферол
Київ «Жуляни»	0,00070	0,00073	0,00272	-	0,00383	-	0,00114
Ніжин САЗ	-	0,00213	0,00282	-	0,00253	-	0,00311

Таблиця 4

Жирнокислотний склад ліпідів у зразках *Plantago major L.* (%)

Проба	Назва жирної кислоти										
	C _{14:0}	C _{15:0}	C _{16:0}	C _{17:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	Сума НЖК	Сума ННЖК	Сума ПНЖК
I	7,7	3,9	46,5*	0,8	3,9	6,2	30,2*	0,8	62,8	37,2*	31*
II	7,9*	3,5	48,7*	0,8	4,4	7,3	26,5*	0,9	65,3	34,7*	27,4*
III	6	4,3	53,4	0,9	5,2	8,6	20,7	0,9	69,8	30,2	21,6

* – вірогідна різниця з контролем. Проба I – аеродром «Жуляни»; II – Ніжинський аеродром; III – контроль.

Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів у зразках лікарських рослин залежно від місця зростання наведені в таблиці 4.

Результати хроматограм вмісту флавоноїдів подорожника великого наведено на рис. 1, де зразки взяті на території, прилеглий до аеродрому «Жуляни» Київської області, та рис. 2 – біля Ніжинського аеродрому Чернігівської області.

Проаналізувавши хроматограми та провівши ідентифікацію компонентів та їх піки поглинання з низки флавоноїдів кількісний вміст, встановлено для хлорогенової і кавової кислоти, рутину та кемпферолу. Галова кислота – лише в зразках зібраних біля аеродрому «Жуляни».

Хлорогенова кислота є регулятором ростових процесів рослин, відіграє роль у забезпеченні імунітету рослин. Кавова кислота характеризується високими антиоксидантними властивостями, а рутин підвищує активність вітаміну С. Кемпферол сприяє розвитку пилку [9; 10].

Кількісний вміст флавоноїдів у зразках подорожника великого порівняно з літературними даними може свідчити про процес адаптації рослин до умов урбанізованого середовища, зокрема мутагенної дії важких металів [3; 10; 11].

Водночас проаналізувавши площі піків поглинання решти фенольних сполук, можна припустити, що умови проростання негативно впливають на біохімічні показники біологічно активних речовин, пригнічуючи їх синтез у рослині.

Дослідження жирнокислотного складу ліпідів дає змогу оцінити вплив умов проростання на рослини і

може бути використаним як один із показників екологічного моніторингу території та адаптогенної спроможності організму.

Жирнокислотний склад ліпідів подорожника великого проба I та II відрізняється від контролю зниженням вмісту пальмітинової ЖК (на 9% і 13%) і лінолевої ЖК (на 28% і 46%), що зумовлює зростання суми полінасичених ЖК (на 27% і 43%). Таким чином, проведене дослідження свідчить про те, що умови проростання на території, прилеглий до аеродромів, негативно впливають на жирнокислотну формулу ліпідів рослини.

Головні висновки. У ґрунті вміст важких металів не перевищує норми. Важкі метали за інтенсивністю накопичення рослинами розташовуються в такому порядку: Cd > Cu > Zn > Pb. Властивість подорожнику накопичувати в листі важкі метали може бути використана як один із методів фітотомоніторингу та фіторемідації середовища.

Дослідження вмісту флавоноїдів, насичених та ненасичених жирних кислот у рослинній сировині свідчать про те, що умови проростання негативно впливають на біохімічні показники біологічно активних речовин, пригнічуючи їх синтез у рослинах. Можливо, це спричинено процесом адаптації рослин до умов урбанізованого середовища, зокрема мутагенної дії важких металів.

Перспективи використання результатів дослідження. Тому в подальших дослідженнях буде проводитись аналіз на зв'язок інших біологічно активних сполук з адаптогенними властивостями до дії важких металів.

Література

1. Державна Фармакопея України. 2-е вид. Доповнення 1. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
2. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. К.: Голов. ред. УРЕ, 1989. 544 с.
3. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині. К.: Медицина, 2007. 543 с.
4. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. Изд. 2-е. М., 1992. 61 с.
5. Петрук В.Г. Нормування антропогенного навантаження на навколишнє середовище. Частина 1. Вінниця: ВНТУ, 2013. 253 с.
6. Перельман А.И., Касимов Г.Н. Геохимия ландшафтов. М., 1999. 768 с.
7. Державна Фармакопея України. 1-е вид. Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2008. 620 с.
8. Спосіб оцінки жирнокислотного складу ліпідного комплексу користних рослин: пат.83272 Україна, МПК G01N 33/68. № 201304877; заявл. 17.04.2013; опубл. 27.08.2013, Бюл. №16. 4 с.
9. Ковальов В.М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин. Харків: Вид-во НФаУ, МТК-книга. 2004. 704 С.
10. Hänsel R., Sticher O. Pharmakognosie. Phytopharmazie. 9 Aufgabe. München, Springer, 2009. 1451 p.
11. Маційчук О.П. Дослідження фенольного складу листків та квітів подорожника великого та подорожника ланцетелистого. Український медичний альманах. 2012. Т. 15, № 3. С. 119–121.