

\* \* \*

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ РУТИНА И КВЕРЦЕТИНА В РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРОДУКТАХ

Егорова З.Е., Шекутнева Т., Дрозд Д., Жуковская А.И., Рослик В.Л.

*Белорусский государственный технологический университет,  
РНТЦ «Экомир», УП «Стандартплодоовощ»*

Основной причиной различных заболеваний человека, исключая генетическую предрасположенность, является нарушение обмена веществ, которое обусловлено неполноценным питанием. Современный человек должен употреблять в пищу такие продукты, которые являются не только источниками строительных веществ, но и обладают способностью нейтрализовать последствия всевозможных стрессов на организм человека.

Традиционная пища не обладает такими свойствами в полной мере, поэтому существует необходимость добавления к продуктам питания так называемых биологически активных добавок (БАД) - многокомпонентных комплексов, тщательно сбалансированных по необходимым для организма человека биологически активным веществам. Следует отметить, что оздоровительное действие многих биологически активных добавок обязано высокому содержанию в них полифенольных соединений и, в частности, флавоноидов [1,2]. Наиболее перспективными веществами этой группы для использования в качестве БАД являются рутин и кверцетин, а также производные кверцетина [3].

Литературные данные [4-6] свидетельствуют о том, что, несмотря на схожесть структуры, все флавоноидные соединения достаточно четко различаются по ряду химических свойств, в связи с чем для определения конкретного вида флавоноида широкое распространение получили методы жидкостной и тонкослойной хроматографии.

Поэтому целью данной работы было определение рутина и кверцетина хроматографическими методами в растительных продуктах.

### Методика исследования

Объектами исследований служили образцы гречки, черники и плодов шиповника сушеных, листа лавра благородного, кориандра посевного, асептически консервированных пюре из черноплодной рябины, пюре из клюквы и сока из черноплодной рябины концентрированного, сушеных листьев подорожника и травы зверобоя.

Выбор объектов исследований был обусловлен следующими причинами:

- согласно данным литературы [7] выбранные нами растительные пищевые продукты и лечебные травы — источники рутина и кверцетина;
- вышеуказанные продукты часто используются в качестве пряностей и составных частей купажируемых продуктов на консервных предприятиях республики и пользуются широким спросом у населения.

Также объектами исследований были препараты рутина производства фирмы Merck, марки «экстра чистый», и кверцетина, использованные нами в качестве контроля.

Экспериментальная часть работы была выполнена на кафедре физико-химических методов сертификации продукции БГТУ и РНТЦ «Экомир».

Определение содержания рутина осуществляли на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы Waters (США) с соблюдением следующих условий хроматографирования: спектрофотометрический (ультрафиолетовый) детектор (254 нм); хроматографическая колонка Nova-Pak C<sub>18</sub>, подвижная фаза – ацетонитрил:вода:уксусная кислота (40:60:1), растворитель – ацетонитрил, скорость потока – 0,5 мл/мин, объем вводимой пробы – 10мкл, время хроматографирования – 10 мин. Пробоподготовка образцов заключалась в экстракции ацетонитрилом измельченных продуктов.

Обработка результатов анализа проводилась на компьютере IBM – 6 с программным обеспечением «Миллениум».

Определение кверцетина в исследуемых образцах осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках Силуфол. В качестве подвижной фазы использовали смесь бензола с метанолом в соотношении 95:5. Выбор подвижной фазы обусловлен тем, что по данным литературы [8] подвижная фаза бензол-метанол позволяет достичь наилучшего разделения флавоноидов до отдельных веществ. Экстракцию флавоноидов из образцов проводили тремя способами: этанольным раствором соляной кислоты или метанольным раствором соляной кислоты с последующим обезвоживанием, выпариванием и растворением осадка в хлороформе и этанолом посредством кипячения с обратным холодильником, концентрированием отгонкой под вакуумом, обезвоживанием и фильтрованием.

Идентификацию кверцетина проводили поэтапно следующим образом.

1) Хроматограммы обрабатывали серной кислотой с целью идентификации группы флавонолов среди остальных групп флавоноидов. Появление пятен желтого цвета свидетельствовало о наличии веществ, относящихся к группе флавонолов.

Для идентификации кверцетина использовали лишь желтые пятна со значением относительной скорости перемещения компонента  $R_f = 0,47$ , что соответствует значению  $R_f$  для кверцетина [9].

2) Идентификацию кверцетина проводили с помощью следующих качественных реакций:

- с раствором формальдегида в концентрированной серной кислоте (реактив Марки);
- с азотистой кислотой (реакция Либермана).

Количественное определение кверцетина проводили визуально сравнением диаметров пятен кверцетина-контроля и кверцетина в образце.

### Результаты исследований и их обсуждение

Определение содержания рутина. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

### Содержание рутина в исследованных растительных продуктах

Продукты растительного происхождения	Количество рутина, мкг/г
Гречневая крупа	13,82
Плоды черники сушеные	108,93
Плоды шиповника майского сушеные	61,64
Лист лавра благородного	290,27
Кориандр посевной	11,78
Листья подорожника большого сушеные	66,27
Трава зверобоя продырявленного сушеная	411,59

Полученные нами результаты соответствуют данным литературы [7] и свидетельствуют о том, что плоды черники, лист лавра и трава зверобоя могут быть использованы в качестве источников рутина.

*Определение кверцетина.* Исследования по установлению оптимального способа пробоподготовки показали, что наилучший эффект выделения флавоноидов из

растительных продуктов достигается экстракцией этанольным раствором соляной кислоты (1-й способ).

Результаты качественного определения кверцетина в исследуемых продуктах представлены в табл.2.

Таблица 2

**Идентификация желтых пятен с  $R_f=0,47$  с помощью цветных реакций**

Объект исследования	Окраска продуктов реакции неизвестного вещества, находящегося в желтом пятне с $R_f=0,47$ , с реагентами			
	Реактив Марки при нагревании	Азотистая кислота (реакция Либермана)	Вода	Щелочь
Пюре из черноплодной рябины	Красно-оранжевая	Красно-коричневая	Желто-бурая	Желто-оранжевая
Пюре из клюквы	То же	То же	То же	То же
Сок из черноплодной рябины концентрированный	То же	То же	То же	То же
Контроль	Красно-оранжевая	Красно-коричневая	Желто-бурая	Желто-оранжевая

Как видно из данных табл. 2 неизвестные вещества с  $R_f = 0,47$ , выделенные из разных растительных продуктов питания и имеющие желтый цвет после обработки концентрированной серной кислотой, образовывали с разными реактивами продукты реакции одинакового цвета. Необходимо отметить, что через 1,5 минуты после начала нагревания исследуемых веществ с реактивом Марки, растворы окрасились в красно-оранжевый цвет. Из всех фенолов, согласно данным литературы [10], такую окраску дают только рутин и кверцетин.

После проведения реакции Либермана эти же вещества приобрели красно-коричневое окрашивание. После добавления воды цвет изменился на желто-бурый, а при последующем подщелачивании поменялся на желто-оранжевый. Согласно [10], вышеперечисленные цвета продуктов соответствующих реакций характерны только для кверцетина. В случае, если бы исследуемым веществом был рутин, раствор окрашивался бы соответственно в коричнево-желтый, оранжевый и ярко-оранжевый цвета.

Как видно из результатов, представленных в табл.2, кверцетин (контроль) окрашивался в те же цвета, что и неизвестные вещества, исследованные нами. Таким образом, полученные результаты позволили утверждать, что во всех без исключения исследуемых нами растительных продуктах содержится кверцетин.

Данные экспериментов по количественному определению кверцетина в исследуемых продуктах представлены в табл.2.

## Содержание кверцетина в растительных продуктах

Объект исследования	Количество кверцетина в	
	Пятне на хроматограмме, нг	Продукте, мкг/кг
Пюре из черноплодной рябины	50	150
Пюре из клюквы	5	15
Сок из черноплодной рябины концентрированный	125	375
Контроль	50	

Как видно из представленных результатов, черноплодная рябина может быть использована в качестве природного источника кверцетина как самостоятельно, так и в виде обогащающей добавки в другие пищевые продукты. Наши данные соответствуют исследованиям других авторов [7]. В клюкве кверцетина содержится на порядок меньше. В имеющейся в нашем распоряжении литературе нет данных, касающихся содержания кверцетина в клюкве.

**Заключение**

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что выбранные нами хроматографические методы могут быть использованы для разработки стандартных методов определения рутина и кверцетина в растительных продуктах.

**Литература:**

1. Соколова А. Г., Мамаева Е. М., Мазо В. К. Перспективы использования в лечебно-профилактическом питании добавок антиоксидантного действия, содержащих спирулину // *Научные труды международной конференции «Экология человека и проблемы воспитания молодых ученых»*. — Одесса: Астропринт, 1997.
2. Петушок Н. Э., Требухина Р. В., Петушок В. Г. и др. *Терапия радиационных поражений с помощью витаминных добавок к продуктам питания* // *Национальная политика в области здорового питания в Республике Беларусь. Материалы международной конференции*. — Мн., 1997.
3. *Биофлавоноиды и проницаемость капилляров* / Под ред. М. Н. Запрометова. — М.: Издательство иностранной литературы, 1957. — 39 с.
4. *Химическая энциклопедия*. — М.: Большая российская энциклопедия, 1998. — 513 с.
5. Георгиевский В. П. *Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидов*. — М.: Колос, 1982. — 115 с.
6. Клышев И. П. *Флавоноиды и методы их определения*. — м.: Высшая школа, 1981. — 297 с.
7. Колесникова О. Н. *Использование нетрадиционных культур, выращенных в Беларуси* // *Проблемы производства и переработки малораспространенных плодовых и ягодных культур. Тезисы докладов научно-производственной конференции*. — Мн., 1996.
8. Вигоров Л. И., Трибунская А. Я. *Методы определения флавонолов и флавононов в плодах и ягодах* // *Тр. БАН*. — Свердловск, 1968. — 102 с.
9. Ермаков А. И., Аросимович В. В., Ярмош Н. П. и др. *Методы биохимического исследования растений*. — Л.: Агрпромпиздат, 1987. — 147 с.
10. *Методы идентификации фармацевтических препаратов* / Под ред. И. А. Солдатова. — Киев: Здоровье, 1978. — 182 с.