УДК 615.322:543.422.3

# МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПЛОДАХ *EUTERPE OLERACEA*

© *Е.Е. Курдюков\*, О.А. Водопьянова, Н.В. Антропова, А.В. Митишев, Н.Е. Евграшкина*Пензенский государственный университет, ул. Красная, 40, Пенза, 440026 (Россия), e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru

Плоды эвтерпы овощной (*Euterpe oleracea*) находят широкое применение в зарубежной медицинской практике в качестве антиоксидантного средства. Плоды эвтерпы овощной содержат дубильные вещества, антоцианы, сапонины и флавоноиды. Наиболее распространенным методом количественного определения дубильных веществ является спектрофотометрия. Цель настоящей работы — определение содержания суммы дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной методом спектрофотометрии.

Проведено количественное определение суммы дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной методом прямой спектрофотометрии. Для подтверждения наличия дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной использовали качественные реакции (1% раствор квасцов железоаммонийных, 1% раствор ванилина в концентрированной кислоте хлористоводородной). Методом прямой спектрофотометрии в экстрактах из плодов эвтерпы овощной подтверждено наличие дубильных веществ, определены аналитические максимумы исследуемых соединений около 282±2 нм, что соответствует максимуму поглощения катехина. Обоснованы оптимальные условия экстракции дубильных веществ из сырья данного растения (экстрагент – спирт этиловый 40%; соотношение «сырье – экстрагент» – 1 : 100; время экстракции – 60 мин; степень измельченности сырья – 1.0 мм). Определено, что средняя ошибка определения содержания дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной с доверительной вероятностью 95% составляет ±1.59%. Выявлено, что содержание дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной составляет 8.90%.

Ключевые слова: эвтерпа овощная, Euterpe oleracea, асаи, дубильные вещества, спектрофотометрия.

# Введение

В медицине многих зарубежных стран в качестве антиоксидантного средства используются плоды эвтерпы овощной (*Euterpe oleracea*, сем. Арековые – *Arecaceae*) [1–5]. Содержание действующих веществ считается одним из важных нормируемых показателей качества растительного сырья, необходимо проводить исследования по разработке методики количественного определения данных групп биологически активных соединений [6–9]. Плоды эвтерпы обладают антиоксидантной, противовоспалительной, нейропротекторной и противоопухолевой активностью. Данные виды фармакологической активности за счет определенного набора биологически активных соединений: антоцианов, дубильных веществ и флавоноидов [4, 5, 9–13].

По литературным данным, одной из доминирующих групп биологически активных соединений в пло-

Курдюков Евгений Евгеньевич - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры общей и клинической фармакологии, e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru Водопьянова Ольга Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической фармакологии, e-mail: ol.vodopjanova@yandex.ru Антропова Наталья Викторовна - старший преподаватель кафедры английского языка, e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru Митишев Александр Владимирович – старший преподаватель кафедры общей и клинической фармакологии, e-mail: smitishev@mail.ru Евграшкина Наталья Евгеньевна - студент, e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru

дах эвтерпы овощной являются дубильные вещества, среди которых преобладают катехин и галловая кислота [9–13]. Однако методики количественного определения дубильных веществ отсутствуют.

Цель настоящего исследования – определение содержания суммы дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной методом спектрофотометрии.

#### Экспериментальная часть

Объектами служили зрелые высушенные плоды эвтерпы овощной (ООО «Айдиго», Россия). Для проведения качественных реакций готовили

<sup>\*</sup> Автор, с которым следует вести переписку.

извлечение и проводили следующие реакции с 1% раствором квасцов железоаммонийных, 1% раствором ванилина в концентрированной кислоте хлористоводородной [14].

Извлечение дубильных веществ из плодов эвтерпы проводили путем однократной экстракции спиртом этиловым различной концентрацией (20, 40, 70, 95%) и водой при нагревании на кипящей водяной бане в течение 60 мин [8, 9]. Оптимальным экстрагентом считался тот, который позволял определить наибольшее количество суммы дубильных веществ в исследуемых извлечениях. Регистрировали спектры на спектрофотометре СФ-104 в кювете с толщиной слоя 10 мм (в качестве растворов сравнения использовали спирт этиловый 20, 40, 70, 95% и воду).

Пробу плодов эвтерпы измельчают до частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 1 мм. 0.5 г (точная навеска) измельченного сырья засыпают в колбу объемом 100 мл, добавляют 50 мл экстрагента. Колбу закрывают, взвешивают, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане 60 мин с момента закипания экстрагента. После этого содержимое колбы охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы водой. Полученный экстракт фильтруют (бумажный фильтр), удаляя первые 10 мл фильтрата (раствор A). 1 мл раствора А переносят в мерную колбу объемом 25 мл и доводят до метки экстрагентом.

Оптическую плотность определяют спектрофотометром при 282 нм. Сумму дубильных веществ (X) рассчитывают по формуле [8, 9]

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{144 \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; 144 – удельный показатель поглощения стандартного образца катехина при 282 нм; m – масса сырья, г; W – влажность сырья, %.

# Обсуждение результатов

Качественные реакции на дубильные вещества дали положительные результаты на наличие конденсированных дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной (табл. 1). В качестве основной специфической реакции на дубильные вещества используется реакция с желатином [14].

Одной из доминирующих групп биологически активных соединений в плодах эвтерпы овощной являются дубильные вещества, среди которых преобладают катехин и галловая кислота [5, 10]. Количественное определение суммы дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной спектрофотометрическим методом проводили в пересчете на катехин, дающий максимум поглощения при 282±2 нм, так как катехин является одним из доминирующих веществ в плодах эвтерпы овощной.

При разработке методики определения суммы дубильных веществ экстракцию проводили спиртом различной концентрации и водой. В результате исследования определено, что максимумы поглощения извлечения из плодов эвтерпы находятся при длине волны 282±2 нм, что свидетельствует о наличии дубильных веществ (рис.).

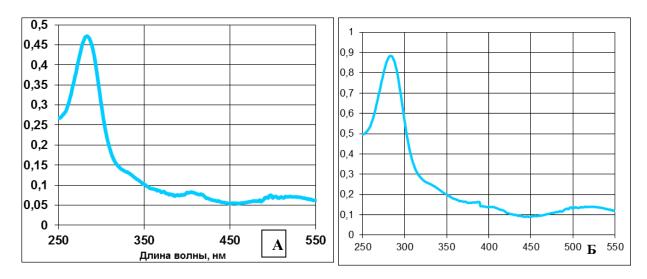
Воду использовали в качестве экстрагента, так как дубильные вещества хорошо растворяются в воде, при этом другие фенольные соединения не будут переходить в раствор и мешать определению танинов [8, 9].

При разработке методики количественного анализа дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной выявлены оптимальные условия экстракции дубильных веществ: степень измельчения сырья -1 мм, экстрагент -40% спирт этиловый, соотношение сырья и экстрагента -1:100, время экстракции -60 мин на водяной бане, температура -90 °C (табл. 2).

С целью пересчета содержания суммы дубильных веществ в извлечении из плодов эвтерпы на катехин нами был использован удельный показатель поглощения катехина при  $\lambda$ =282 нм для прямой спектрофотометрии [8, 9]. Значение  $E^{1\%}_{1cm}$ =144 было включено в формулу расчета, что позволило не использовать СО катехина в последующих определениях.

Таблица 1. Результаты качественных реакций на дубильные вещества в плодах эвтерпы овощной

	1% раствор жела-	1% раствор квасцов железоаммонийных (же-	1% раствор ванилина в
Реакция	тина в 10% растворе	леза окисного хлорид не используют, так как	концентрированной кис-
	натрия хлорида	его раствор имеет кислую реакцию среды)	лоте хлористоводородной
Окрашивание	появляется осадок	черно-зеленое окрашивание	оранжево-красное
			окрашивание



УФ-спектр извлечения из плодов эвтерпы овощной: A – экстрагент спирт этиловый 40% (1 : 100), B – экстрагент вода (1 : 50)

Таблица 2. Влияние различных факторов на полноту извлечения дубильных веществ

Экстрагент	Соотношение	Степень измель-	Время экстракции,	Содержание суммы дубильных			
	«сырье – экстрагент»	ченности, мм	МИН	веществ в пересчете на катехин			
Влияние степени измельченности							
Вода	1:50	0.5	90	8.21±0.05			
Вода	1:50	1.0	90	8.37±0.05			
Вода	1:50	2.0	90	8.24±0.05			
Влияние экстрагента							
Вода	1:50	1.0	90	8.37±0.05			
Этанол 20%	1:50	1.0	90	8.22±0.06			
Этанол 40%	1:50	1.0	90	8.59±0.07			
Этанол 70%	1:50	1.0	90	3.37±0.11			
Этанол 95%	1:50	1.0	90	1.62±0.08			
Влияние соотношения «сырье – экстрагент»							
Этанол 40%	1:25	1.0	90	8.48±0.08			
Этанол 40%	1:50	1.0	90	8.59±0.07			
Этанол 40%	1:100	1.0	90	8.88±0.11			
Этанол 40%	1:200	1.0	90	8.25±0.08			
		Влияние времени э	кстрагирования				
Этанол 40%	1:100	1.0	30	7.48±0.11			
Этанол 40%	1:100	1.0	60	8.88±0.11			
Этанол 40%	1:100	1.0	90	8.51±0.11			

Определены максимумы поглощения дубильных веществ в извлечении из плодов эвтерпы – 282 нм (максимум). Положение максимумов не меняется при использовании в качестве экстрагента воды, этанола 20, 40, 70 и 95%.

Выявлено, что содержание дубильных веществ, при использовании в качестве экстрагента этанола 40%, в плодах эвтерпы составляет 8.90% (табл. 3). Полученные результаты позволяют поставить плоды эвтерпы овощной по содержанию дубильных веществ в один ряд с известными лекарственными растениями – источниками дубильных веществ (дуб черешчатый, содержание ДВ не менее 7.0%; кровохлебки лекарственной, не менее 14.0%; ольхи серой, не менее 10.0%)

Таблица 3. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы дубильных веществ в плодах эвтерпы овощной

ЛРС	F	$\overline{\mathbf{X}}$	$S^2$	S	P, %	t (P, f)	$\Delta \overline{X}$	E, %
Эвтерпа овощная	5	8.90	0.0129	0.1138	95	2.776	±0.0998	±1.59

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы дубильных веществ в извлечении из плодов эвтерпы методом прямой спектрофотометрии указаны в таблице 3. Результаты статистической обработки полученных результатов свидетельствуют о том, что средняя ошибка определения с доверительной вероятностью 95% составляет не более ±1.59% при определении суммы дубильных веществ методом прямой спектрофотометрии в пересчете на катехин.

#### Выводы

Предложена методика количественного определения суммы дубильных веществ (прямая спектрофотометрия), определены параметры УФ-спектра водно-спиртового извлечения из плодов эвтерпы максимум при  $\lambda$ =282±2 нм. Положение максимумов не меняется при использовании в качестве экстрагента воды, этанола 20, 40, 70 и 95%.

Для экстракции дубильных веществ из плодов эвтерпы целесообразно использование этанола 40%, так как интенсивность пиков в воде 20, 70 и 95% спиртовых экстрактах меньше по сравнению с 40%.

Содержание дубильных веществ в сырье, равное 8.90%, достигается применением подобранных условий экстракции: степень измельчения – 1 мм, экстрагент – 40% этанол, соотношение «сырье – экстрагент» 1:100 и экстракцией на кипящей водяной бане в течение 60 мин.

## Список литературы

- De Moura R.S., Resende A.C. Cardiovascular and Metabolic Effects of Acai, an Amazon Plant // J. Cardiovasc Pharmacol. 2016. Vol. 68. Pp. 19–26.
- 2. De Souza M.O., Souza e Silva L., de Brito Magalhaes C.L., de Figueiredo B.B., Costa D.C., Silva M.E. The hypocholesterolemic activity of acai (Euterpe oleracea Mart.) is mediated by the enhanced expression of the ATP-binding cassette, subfamily G transporters 5 and 8 and low-density lipoprotein receptor genes in the rat // Nutrition Research. 2012. Vol. 32. Pp. 976–984.
- 3. Udani J.K., Singh B.B., Singh V.J., Barrett M.L. Effects of Acai (Euterpe oleracea Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study // Nutr J. 2011. Vol. 2. N10. P. 45.
- 4. Heinrich M., Dhanji T., Casselman I. Acai (Euterpe oleracea Mart.) A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims // Phytochem. Lett. 2011. Vol. 4. Pp. 10–21.
- Carvalho A.V., Ferreira da Silveira T., Mattietto R.d.A., Padilha de Oliveira M.d.S., Godoy H.T. Chemical composition and antioxidant capacity of acai (Euterpe oleracea) genotypes and commercial pulps // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2017. Vol. 97. Pp. 1467–1474.
- 6. Самылина И.А., Баландина И.А. Пути использования лекарственного растительного сырья и его стандартизация // Фармация. 2004. №2. С. 39–41.
- 7. Коренская И.М., Ивановская Н.П., Измалкова И.Е., Мальцева А.А., Каракозова С.А. Фитохимический анализ лекарственного растительного сырья. Воронеж, 2012. С. 77–76.
- 8. Семенюта К.Н., Куркин В.А., Шмыгарева А.А., Саньков А.Н. Разработка методики количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2020. №2. С. 73–77.
- 9. Мальцева А.А., Чистякова А.С., Сорокина А.А. Количественное определение дубильных веществ в траве горца почечуйного // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2013. №2. С. 203–205.
- 10. Del Pozo-Insfran D., Brenes C.H., Talcott S.T. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Acai (Euterpe oleracea Mart.) // J. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 52. N6. Pp. 1539–1545.
- 11. Del Pozo-Insfran D., Percival S.S., Talcott S.T. Acai (Euterpe oleracea Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006. Vol. 54. Pp. 1222–1229.
- 12. Garzon G.A., Narvaez-Cuenca C.E., Vincken J.P., Gruppen H. Polyphenolic composition and antioxidant activity of açai (Euterpe oleracea Mart.) from Colombia // Food Chemistry. 2017. Vol. 217. Pp. 364–372.
- 13. Bataglion G.A., da Silva F.M.A., Eberlin M.N., Koolen H.H.F. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS // Food Chemistry. 2015. Vol. 180. Pp. 280–287.
- Ладыгина Е.Я., Сафронич Л.Н., Отряшенкова В.Э. и др. Химический анализ лекарственных растений. М., 1983.
  176 с.

Поступила в редакцию 23 января 2021 г.

После переработки 27 февраля 2021 г.

Принята к публикации 30 сентября 2021 г.

**Для цитирования:** Курдюков Е.Е., Водопьянова О.А., Антропова Н.В., Митишев А.В., Евграшкина Н.Е. Методика количественного определения суммы дубильных веществ в плодах *Euterpe oleracea* // Химия растительного сырья, 2021. №4. С. 225–229. DOI: 10.14258/jcprm.2021049158.

 $\it Kurdyukov~E.E.^*, Vodop'yanova~O.A., Antropova~N.V., Mitishev~A.V., Evgrashkina~N.E. METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE SUM OF TANNINS IN <math>\it EUTERPE~OLERACEA$  FRUITS

Penza State University, ul. Krasnaya, 40, Penza, 440026 (Russia), e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru

Fruits of Euterpe oleracea are widely used in foreign medical practice as an antioxidant. The fruits of Euterpe contain tannins. The most common method of quantitative determination of tannins is spectrophotometry. The purpose of this work is to determine the content of the sum of tannins in the fruits of Euterpe by spectrophotometry

Quantitative determination of the amount of tannins in the fruits of Euterpe by direct spectrophotometry was carried out. To confirm the presence of tannins in the fruits of Euterpe, qualitative reactions were used (1% solution of iron-ammonium alum, 1% solution of vanillin in concentrated hydrochloric acid). The presence of tannins was confirmed by direct spectrophotometry in extracts from euterpe fruits, the analytical maxima of the studied compounds were determined at about  $282\pm2$  nm, which corresponds to the maximum absorption of catechin. The optimal conditions for the extraction of tannins from the raw materials of this plant (extractant – ethyl alcohol 40%; the ratio of "raw material – extractant" – 1: 100; extraction time – 60 minutes; the degree of grinding of raw materials – 1.0 mm) are justified. It was determined that the average error in determining the content of tannins in the fruits of euterpe with a confidence probability of 95% is  $\pm1.59\%$ . It was revealed that the content of tannins in the fruits of euterpe is 8.90%.

Keywords: Euterpe oleracea, acai, tannins, spectrophotometry.

## References

- 1. De Moura R.S., Resende A.C. J. Cardiovasc Pharmacol., 2016, vol. 68, pp. 19–26.
- 2. De Souza M.O., Souza e Silva L., de Brito Magalhaes C.L., de Figueiredo B.B., Costa D.C., Silva M.E. *Nutrition Research*, 2012, vol. 32, pp. 976–984.
- 3. Udani J.K., Singh B.B., Singh V.J., Barrett M.L. *Nutr J.*, 2011, vol. 2, no. 10, p. 45.
- 4. Heinrich M., Dhanji T., Casselman I. *Phytochem. Lett.*, 2011, vol. 4, pp. 10–21.
- 5. Carvalho A.V., Ferreira da Silveira T., Mattietto R.d.A., Padilha de Oliveira M.d.S., Godoy H.T. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, vol. 97, pp. 1467–1474.
- 6. Samylina I.A., Balandina I.A. Farmatsiya, 2004, no. 2, pp. 39–41. (in Russ.).
- 7. Korenskaya I.M., Ivanovskaya N.P., Izmalkova I.Ye., Mal'tseva A.A., Karakozova S.A. *Fitokhimicheskiy analiz lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya*. [Phytochemical analysis of medicinal plant materials]. Voronezh, 2012, pp. 77–76. (in Russ.).
- 8. Semenyuta K.N., Kurkin V.A., Shmygareva A.A., San'kov A.N. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2020, no. 2, pp. 73–77. (in Russ.).
- 9. Mal'tseva A.A., Chistyakova A.S., Sorokina A.A. Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya, 2013, no. 2, pp. 203–205. (in Russ.).
- 10. Del Pozo-Insfran D., Brenes C.H., Talcott S.T. J. Agric. Food Chem., 2004, vol. 52, no. 6, pp. 1539–1545.
- Del Pozo-Insfran D., Percival S.S., Talcott S.T. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, vol. 54, pp. 1222– 1229.
- 12. Garzon G.A., Narvaez-Cuenca C.E., Vincken J.P., Gruppen H. Food Chemistry, 2017, vol. 217, pp. 364–372.
- 13. Bataglion G.A., da Silva F.M.A., Eberlin M.N., Koolen H.H.F. Food Chemistry, 2015, vol. 180, pp. 280–287.
- 14. Ladygina Ye.Ya., Safronich L.N., Otryashenkova V.E. i dr. *Khimicheskiy analiz lekarstvennykh rasteniy*. [Chemical analysis of medicinal plants]. Moscow, 1983, 176 p. (in Russ.).

Received January 23, 2021

Revised February 27, 2021

Accepted September 30, 2021

**For citing:** Kurdyukov E.E., Vodop'yanova O.A., Antropova N.V., Mitishev A.V., Evgrashkina N.E. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 4, pp. 225–229. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021049158.

\_

<sup>\*</sup> Corresponding author.