

Актуальность. В последнее десятилетие значительно интенсифицировались исследования стевии - новой культуры из Южной Америки, в листьях которой содержится комплекс сладких веществ - дитерпеновых гликозидов, являющихся диетическими сахарозаменителями. Их сладость превышает сладость сахарозы в сотни раз и они, как и другие компоненты листьев стевии, безопасны для человека при длительном употреблении [1, 2]. Помимо исследования сладких гликозидов стевии большое внимание уделяется изучению других соединений, содержащихся в ее листьях и определяющих ряд полезных свойств этого растения. Среди этих свойств - антиоксидантная, иммуномоделирующая, антивирусная, гипогликемическая и гастропротекторная активность, влияние на кровяное давление и функцию почек, а также ряд других биологических свойств, подробно рассмотренных в обзоре [2]. Среди различных групп химических соединений, содержащихся в листьях стевии, полифенолы являются одними из наиболее важных. Полифенолы - собирательное название целого класса органических соединений, молекулы которых имеют в своем составе фенольные группы. По химической природе они разделяются на три основных группы: терпены (терпеноиды, изопреноиды), фенилпропаноиды и их производные (флавоноиды, танины, лигнаны, гликозиды), а также азотсодержащие соединения (алкалоиды и гетероциклические ароматические молекулы). Растительные полифенолы, являясь мощными антиоксидантами, защищают клетки организма человека от повреждающего действия свободных радикалов и поддерживают их нормальные функции, замедляя старение. Кроме того, полифенолы обладают гепато - и радиопротекторной, желчегонной активностью, усиливают регенеративные процессы [3]. Широкий спектр биологических эффектов растительных полифенолов реализуется через неспецифические взаимодействия с различными мишенями — от белков до низкомолекулярных веществ и даже ионов. В листьях стевии обнаружено высокое содержание одного из полифенолов - хлоргеновой кислоты [4, 5]. Эта кислота относится к семейству производных коричной кислоты и обладает сильными антиоксидантными, антивирусными, антибактериальными и антигрибковыми свойствами, проявляет гипогликемическое, гипохолестеринемическое, противораковое и гепатопротекторное действие. Установлены ее пребиотические свойства [6]. Целью настоящей работы являлось изучение содержания полифенолов в экстрактах листьев стевии разных генотипов и их возможная связь с антиоксидантной активностью, которая была изучена в нашем предыдущем исследовании [7]. Материалы и методы Образцы стевии различных генотипов были выращены в условиях светокультуры и открытого грунта Северо-Запада России. Их морфологические особенности и продуктивность описаны в предыдущей работе [7]. Для анализа использовали среднюю пробу из сухих листьев 5 - 6 растений одного генотипа. Получение экстракта из листьев стевии Предварительно измельченные до

порошкообразного состояния образцы листьев стевии взвешивали и засыпали в пробирки объемом 2 мл и добавляли по 1,5 мл 70 % метанола. Масса навески составляла около 0,1 г. Затем пробирки с образцами устанавливали в водяной термостат экстрактор Stualt SBH 130D. Экстракцию проводили в течение 5 минут при температурах 60 °C, 70 °C, 80 °C, 90 °C и 100 °C. Разделение экстракта и шрота стевии в пробирках проводили центрифугированием в течение 10 мин. при 10000 об/мин. Фугат сливали, к осадку добавляли 700 мкл метанола. Затем экстракцию повторяли в течение 5 минут при тех же температурах. Разделение экстракта и шрота стевии в течение 10 мин., при 10000 об/мин. Фугат после двух экстракций смешивали в пробирке объемом 2 мл. Определение содержания полифенолов в экстракте листьев стевии

Определение содержания полифенолов в экстракте листьев стевии проводили по ГОСТ Р ИСО 14502-1-2010 Чай. Метод определения общего содержания полифенолов [8]. 20 мкл экстракта из листьев стевии доводили до метки 2,0 мл дистиллированной водой, добавляли 1 мл разведенного реагента Folin-Ciocalteu. Через 8 минут добавляли 800 мкл раствора Na_2CO_3 , хорошо перемешивали и через 60 минут готовый экстракт помещали в кювету для измерения оптической плотности при длине волны 765 нм (контроль: вода). Количество полифенолов определяли в расчете на сухую массу образца формуле: $D = \frac{D_{\text{sample}}}{d}$, где D_{sample} - оптическая плотность раствора; $D_{\text{intercept}}$ - оптическая плотность, соответствующая точке пересечения калибровочной зависимости с осью; S_{std} - тангенс угла наклона градуировочной прямой; m_{sample} масса пробы, г; V_{sample} - объем экстракта, см³; d - коэффициент разбавления, используемый до колориметрического анализа; $w_{\text{DM, sample}}$ - массовая доля сухого вещества в пробе, %. Калибровочный график создают по галловой кислоте. Результаты и обсуждение

Влияние температуры экстракции на содержание полифенолов в различных образцах стевии было сходным. Наибольшее количество полифенолов экстрагировалось из листьев всех вариантов при температурах 80 – 90 °C. В интервале температур от 60 до 90 °C наблюдали постепенное увеличение содержания полифенолов в экстрактах, которое затем резко падало при 100 °C (рис.1). Наблюдаемая тенденция аналогична обнаруженной нами зависимости влияния температуры на экстракцию веществ с антиоксидантной активностью (АА) из листьев стевии [7]. Возможное объяснение этому факту сходно с тем, что нами предложено при изучении АА. При низкой температуре происходит неполная экстракция полифенолов; при увеличении температуры экстракции до 80 – 90 °C увеличивается выход экстрактивных веществ. Рис. 1 - Содержание полифенолов (среднее по всем образцам) в экстрактах листьев стевии при разных температурах экстракции

При 100 °C уменьшение содержания полифенолов в экстрактах, видимо, связано с их разложением. Наблюдаемая закономерность может подтверждать тот факт, что полифенолы составляют значительную часть веществ с АА, и аналогичны им по физико-химическим свойствам [9]. В

результате проведенных исследований обнаружены различия в содержании полифенолов у образцов стевии с разными генотипами, которые в целом не оказались значимыми (кроме образца 10). Эти различия сильнее проявлялись при температуре экстракции 80 – 90 оС, слабее - по среднему показателю в интервале 60 – 100 оС. Наименьшее содержание полифенолов в листьях стевии выявлено у образцов № 4 и 9, наибольшее – у образца № 10. Ранжирование генотипов стевии по содержанию полифенолов не совпадало с их ранжированием по АА (рис. 2). Рис. 2 - Содержание полифенолов и АА в метанольных экстрактах из сухих листьев разных генотипов стевии, выращенных в светокультуре Это может свидетельствовать о том, что содержание полифенолов не является определяющим в АА образца и имеется группа других соединений, влияющих на общую АА метанольной вытяжки из листьев стевии. Выводы 1. Эффективной температурой экстракции полифенолов из листьев стевии водно-метанольной смесью является температура в 80-90 °С. 2. Различия по содержанию полифенолов в экстрактах листьев стевии у изученных образцов в целом не сильно выражены. Однако, существенное различие по этим компонентам между некоторыми образцами, позволяет предположить, что поиск генотипов стевии с повышенным содержанием полифенолов может быть перспективен.