

УДК 574+504.5  
AGRIS F60

<https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/04>

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ОБЛУЧЕННЫХ ОБРАЗЦАХ ПОСРЕДСТВОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

- ©*Саруханов А. В.*, ORCID: 0000-0001-6617-5143, Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, г. Обнинск, Россия, [mrrino2008@mail.ru](mailto:mrrino2008@mail.ru)  
©*Морозова А. И.*, ORCID: 0000-0002-1191-4970, Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, г. Обнинск, Россия, [anastasiya87-03@yandex.ru](mailto:anastasiya87-03@yandex.ru)  
©*Васильева Н. А.*, ORCID: 0000-0002-5287-0740, канд. биол. наук, Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, г. Обнинск, Россия, [cornblum@mail.ru](mailto:cornblum@mail.ru)  
©*Крыленкин Д. В.*, ORCID: 0000-0002-5093-590X, Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, г. Обнинск, Россия, [cornblum@mail.ru](mailto:cornblum@mail.ru)

## FLAVONOID'S CONTENT DETERMINATION IN IRRADIATED SAMPLES VIA SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS

- ©*Sarukhanov A.*, ORCID: 0000-0001-6617-5143, Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia, [mrrino2008@mail.ru](mailto:mrrino2008@mail.ru)  
©*Morozova A.*, ORCID: 0000-0002-1191-4970, Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia, [anastasiya87-03@yandex.ru](mailto:anastasiya87-03@yandex.ru)  
©*Vasilyeva N.*, ORCID: 0000-0002-5287-0740, PhD, Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia, [cornblum@mail.ru](mailto:cornblum@mail.ru)  
©*Krylenkin D.*, ORCID: 0000-0002-5093-590X, Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia, [cornblum@mail.ru](mailto:cornblum@mail.ru)

*Аннотация.* Кратко изложена общая информация о биологически активных веществах флавоноидах. Обоснована потребность в количественном определении их содержания в продуктах и влияния на него методов их обработки. Были изучены методики качественного и количественного определения флавоноидов в различных продуктах, препаратах и сырье. На их основании составлена и апробирована методика определения флавоноидов в образцах облученного кориандра. Рассмотрены дальнейшие пути изучения и доработки данной методики для определения содержания флавоноидов в облученных образцах методом спектрофотометрического анализа.

*Abstract.* General information about biologically active substances flavonoids is concisely presented. The need for the quantitative determination of its content in products and the influence of product processing on flavonoid's content is justified. Methods of qualitative and quantitative determination of flavonoids content in various products, medications and raw materials were studied. Based on this study the method of quantitative determination of flavonoid's in samples of irradiated coriander is compiled and tested. Further ways to improve and adjust the compiled method for flavonoid's content determination in irradiated samples via spectrophotometric analysis is considered.

*Ключевые слова:* флавоноиды, спектрофотометрический анализ, антиоксиданты, кориандр, кверцетин, биологически активные добавки.

*Keywords:* flavonoid's, spectrophotometric analysis, antioxidants, coriander, quercetin, biologically active substances.

### *Введение*

Флавоноиды принадлежат к классу полифенольных соединений растительного происхождения. Их можно отнести к вторичным продуктам метаболизма растений. Однако среди вторичных продуктов эта группа веществ является одной из наиболее заметных, благодаря участию во многих ключевых процессах роста и развития растений. Флавоноиды участвуют в пигментации растений, могут определять окраску цветов. Они играют заметную роль в процессах клеточной сигнализации и сами могут служить в качестве мессенджеров химических сигналов, участвуют в процессах репродукции растений и, в частности, в процессах развития и функционирования пыльцы, накоплении нектара, в созревании плодов и семян. Новые данные позволяют предположить, что флавоноиды могут участвовать в процессах экспрессии генов, изменять активность регуляторных белков и участвовать в регуляции клеточного деления. Однако наиболее заметную роль флавоноиды играют в защите растений от различных неблагоприятных факторов окружающей среды. К ним следует отнести действие ультрафиолета, температурный стресс, повышенные концентрации тяжелых металлов, а также действия ионизирующего излучения. Флавоноиды играют огромную роль в защите растений от бактериальной, вирусной и грибковой инфекции, от проникновения паразитов и повреждения насекомыми. Одной из наиболее заметных функций флавоноидов является их участие в защите растений от окислительного стресса благодаря выраженной антиоксидантной активности [1].

В клетках животных и человека флавоноиды не синтезируются, и присутствие флавоноидов в тканях полностью зависит от потребления в пищу растительных продуктов. Хертог (Hertog) одним из первых оценил размеры потребления флавоноидов большими группами населения. Было показано, что смертность от инфаркта миокарда среди пожилых людей характеризуется обратной корреляцией с потреблением флавоноидов. В то же время этим автором не было обнаружено связи между потреблением флавоноидов и онкологическими заболеваниями. Проведенные позже на многих тысячах добровольцев многолетние наблюдения связи между потреблением флавоноидов и сердечно-сосудистыми заболеваниями выявляли наличие корреляции не во всех случаях. В отличие от общепризнанных витаминов, например витамина Е или витамина С, отсутствие в пище флавоноидов не приводит к развитию выраженного синдрома дефицита. Поэтому причисление флавоноидов к группе витамина Р оказалось преждевременным и впоследствии было отклонено [1].

Употребление в пищу продуктов содержащих флавоноиды считается полезным для снижения числа заболеваний сердечно-сосудистой системы, уменьшение числа воспалительных [2] и онкологических [3] заболеваний, повышает когнитивные способности, снижает риск болезни Альцгеймера и старческого слабоумия.

Интерес к флавоноидам обусловлен не только возможным положительным действием этих веществ, наблюдаемым при потреблении растительных продуктов, но также перспективой получения синтетических производных этих веществ, обладающих лекарственным действием. На основе флавоноидов возможно создание новых высокоактивных лекарственных препаратов, обладающих противовоспалительной, антиканцерогенной, противовирусной, антипаразитарной или бактерицидной активностью. На основе флавоноидов создаются и испытываются агенты, способствующие усилению действия других лекарств, благодаря способности флавоноидов подавлять работу механизмов множественной лекарственной устойчивости.

Исследования последних лет показали, что производные некоторых флавоноидов могут успешно использоваться при лечении различных заболеваний внутренних органов: эти

вещества зачастую проявляют большую эффективность, чем известные лекарственные препараты [4–7]. Примечательно, что флавоноиды и их производные подчас обладают меньшей токсичностью и проявляют меньше побочных эффектов, чем аналогичные лекарственные средства, полученные из других источников. В то же время необходимо учитывать, что чрезмерное потребление какого-либо продукта чревато негативными последствиями. Флавоноиды не составляют исключения из этого правила, хотя аспекты негативного действия избытка флавоноидов исследованы мало [8]. С особой осторожностью следует относиться к большим дозам препаратов очищенных флавоноидов, предлагаемых в качестве пищевых добавок [9].

Таким образом, можно проследить необходимость контроля потребления флавоноидов, что в свою очередь требует знания их содержания в потребляемых продуктах, таких как фрукты, овощи, растительные масла, вина, чай, кофе, какао, приправы и специи, а также влияние различных видов обработок этих продуктов на изменение содержания в них флавоноидов, в том числе эффекты различных видов ионизирующего облучения.

Существует несколько вариаций методов определения содержания флавоноидов в продуктах. В частности в статье Ж. С. Лесовой исследовались условия извлечения флавоноидов из сырья последовательной сменой этанола 90%, 70% и 40% концентрации [10].

В статье А. А. Марьина, Г. И. Калинина для качественного определения флавоноидов использовался хроматографический метод. В качестве одного из наиболее распространенных методов количественного определения флавоноидов выступает фотоспектрометрический анализ благодаря их способности легко образовывать комплексы с ионами металлов [11].

В частности в вышеупомянутой статье А. А. Марьина после извлечения флавоноидов из сбора «Кардезид» 40% спиртом, после взаимодействия вытяжки с раствором хлорида алюминия проводили измерения оптической плотности. Было отмечено, что наблюдается bathochromный сдвиг длинноволновой полосы поглощения, благодаря чему основной пик наблюдался при длине волны 410 нм. При этом оптимальным соотношением сырья к экстрагенту было установлено 1:50. Ошибка методики составляла 4,52% [10].

Исследования Б. Б. Тихонова и др. [12] показали, что использование 70% раствора спирта может извлекать в два раза больше флавоноидов из сырья, по сравнению с 40%, на примере ромашки лекарственной *Matricaria chamomilla* L. и календулы лекарственной *Calendula officinalis* L. Измерения проводились на длине волны 400 нм.

В работе А. В. Башилова и Е. В. Спиридовича для экстракции флавоноидов из *Polemonium caeruleum* L. и *Filipendula* [Tourn.] Mill. использовали 90% раствор спирта с добавлением 1% соляной кислоты. Измерения проводили при длинах волн 430 нм (для кверцетина) и 410 нм (для рутина) [13].

А. А. Лобанова и др. использовали для качественного определения флавоноидов хлорид железа (III), образующий с флавонолами (рутин, кверцетин, кемпферол) комплексы зеленого цвета, а с флавононами комплексы, окрашенные в коричневый цвет (Рисунок 1).

Для количественного определения также использовалась реакция с  $AlCl_3$ . При этом сообщалось об отсутствии какого-либо стабилизирующего воздействия кислот, в связи с чем они не добавлялись в реакционную смесь. В данной статье были приведены следующие пики оптической плотности экстрактов: черноплодной рябины — 405, 525 нм, жомы брусники — 415, 560, листа облепихи — 400, веток лимонника — 409, элеутерококка — 376, аралин — 360. На основании этих данных авторами было предложено проводить измерения относительно стандарта рутина в диапазоне от 408 до 420 нм и относительно кверцетина в диапазоне 421–435 нм [14].

*Материалы и методы*

Изучив различные доступные на данный момент методики по определению флавоноидов, было принято решение о проведении измерения флавоноидов по следующей методике. Для наиболее качественного извлечения флавоноидов экстракция велась при помощи 70% спирта на протяжении 2-х часов в термостате при 60 °С, так как вышеизложенные работы показывают недостаточное извлечение при использовании спиртовых растворов более низких концентраций (вплоть до двукратной разницы).

В качестве комплексообразователя был выбран хорошо зарекомендовавший себя раствор  $AlCl_3$ . Так как пики плотности поглощения ожидалось получить в области 420–430 нм, для построения калибровочного графика был использован стандартный раствор кверцетина.

Измерения проводились на спектрофотометре СФ-2000 ЗАО «ОКБ СПЕКТР» со спектральным диапазоном от 190 до 1100 нм и пределом допускаемого значения абсолютной погрешности при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания в 1%. Результаты построения калибровочного графика приведены ниже (Таблица 1, Рисунок 1).

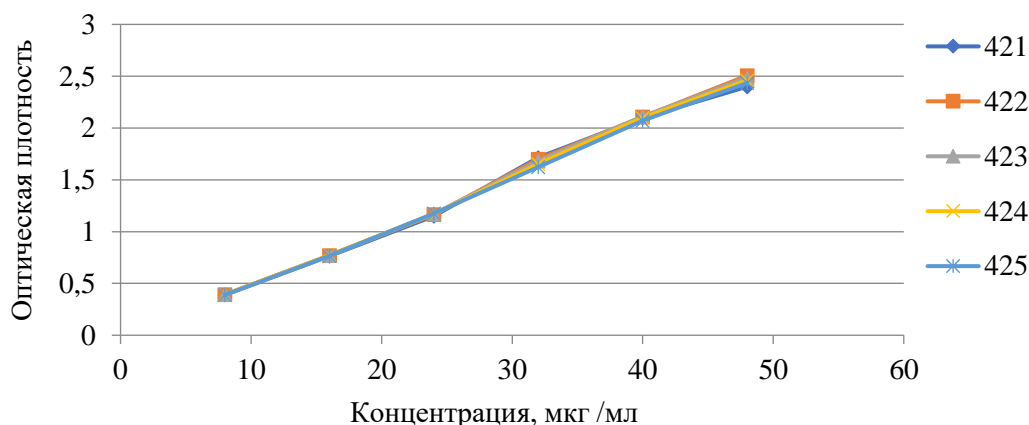


Рисунок 1. Калибровочный график по кверцетину на разных длинах волн.

Таблица 1.

ДАННЫЕ ПО ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ  
 КАЛИБРОВОЧНЫХ РАСТВОРОВ НА РАЗНЫХ ДЛИНАХ ВОЛН

Концентрация, мкг /мл	Оптическая плотность при соответствующей длине волны				
	421 нм	422 нм	423 нм	424 нм	425 нм
8	0,3902	0,3918	0,3934	0,3939	0,3893
16	0,7652	0,7689	0,7715	0,7737	0,7685
24	1,1506	1,1642	1,1715	1,1728	1,1761
32	1,7145	1,6998	1,6824	1,6544	1,6217
40	2,0997	2,1072	2,1111	2,1002	2,0702
48	2,3991	2,5063	2,4864	2,4604	2,4354

Регрессионный анализ кривой позволил получить уравнение следующего вида для графиков на разных длинах волн —  $D = 0,05C$ , где  $D$  это оптическая плотность, а  $C$  — концентрация кверцетина.  $R^2$  во всех случаях варьировался от 0,995 до 0,998, что показывает, что данное уравнение достаточно хорошо описывает зависимость оптической плотности от концентрации, вне зависимости от длины волны.

### Результаты и обсуждения

В качестве исследуемого образца был выбран облученный различными дозами ионизирующего  $\beta$ -облучения кориандр. Кориандр облучали в ООО «Теклеор» на электронном ускорителе УЭЛР-10–15-С-60–1 дозой 4, 6, 8, 10 и 12.

Измерение поглощенной дозы проводили с помощью пленочных дозиметров типа В3000 от GEХ Corp, предназначенных для измерения доз электронного и гамма-излучения в диапазоне энергий 0,5–2,0 МэВ.

После экстракции по описанной выше методике концентрация флавоноидов в пробе определялась по уравнению:

$$C = D/0,05;$$

после чего пересчитывалось относительное содержание флавоноидов в облученном кориандре по массе.

Для пересчета использовалось следующее уравнение:

$$W (\%) = \frac{C_1 * V_1 * V_2 * 100}{m_1 * V_3 * 10^6},$$

где  $W (\%)$  — относительное содержание кверцетина в мкг/мл,  $V_1$  — общий объем экстракта,  $V_2$  — объем разведения,  $V_3$  — объем экстракта взятый для анализа,  $m_1$  — масса экстракта взятого для анализа,  $10^6$  — пересчет мкг в г и 100 пересчет долей в %.

Было обнаружено, что при облучении дозами от 4 до 12 кГрей в кориандре наблюдается некоторое снижение флавоноидов (Таблица 2), при этом увеличение дозы, как правило, приводит к снижению содержания флавоноидов, хотя разница не слишком значительная, хотя это может быть обусловлено общим низким содержанием этих соединений в исследуемых образцах (Рисунок 2).

Также можно заметить смещение максимального пика оптической плотности в область более коротких волн.

Таблица 2.

#### ДАННЫЕ ПО ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ОБРАЗЦОВ КОРИАНДРА НА РАЗНЫХ ДЛИНАХ ВОЛН

Образец	425 нм	424 нм	423 нм	422 нм	421 нм
4 кГ	0,0416	0,0571	0,0563	0,0618	0,0628
6 кГ	0,0322	0,0510	0,0516	0,0543	0,0547
8 кГ	0,0341	0,0544	0,0563	0,0575	0,0578
10 кГ	0,0358	0,0538	0,0563	0,0563	0,0583
12 кГ	0,0341	0,0553	0,0557	0,0571	0,0603
Контроль	0,0426	0,0594	0,0649	0,0643	0,0682

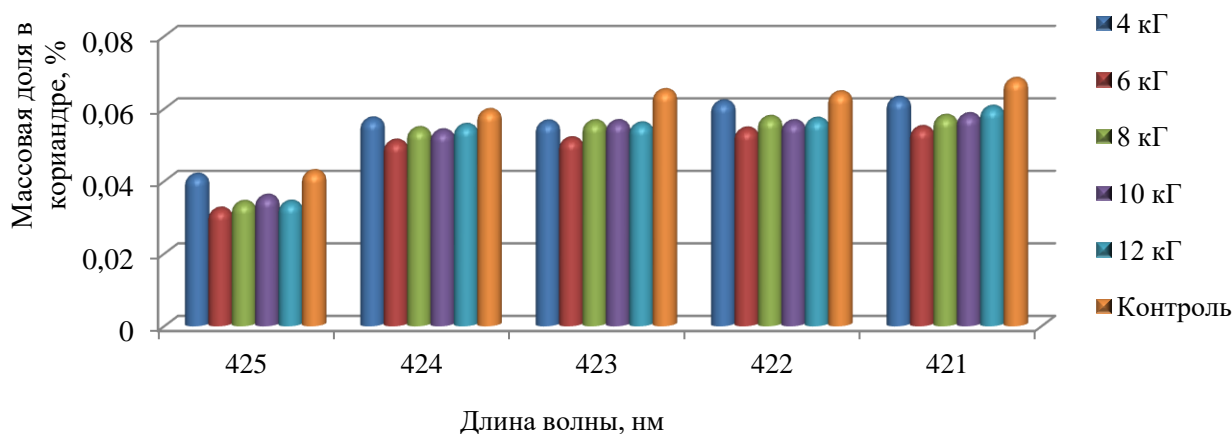


Рисунок 2. Массовая доля флавоноидов в кориандре после обработки  $\beta$ -излучением.

### Заклучение

Полученные данные позволяют сделать вывод, что данная методика может использоваться в дальнейшем для определения содержания флавоноидов в различных образцах, однако их анализ в сочетании с работами других авторов показывает, что следует провести измерения в области более коротких волн для получения более ярко выраженных пиков оптической плотности, что в свою очередь может дать более точные и достоверные результаты.

### Список литературы:

1. Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдрасилов Б. С., Музафаров Е. Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пущино: Synchrobook, 2013. 310 с.
2. Urpi-Sarda M., Casas R., Chiva-Blanch G., Romero-Mamani E. S., Valderas-Martinez P., Arranz S., Andres-Lacueva C., Llorach R., Medina-Rejon A., Lamuela-Raventos R. M., Estruch R. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis // *Pharmacological research*. 2012. V. 65. №6. P. 577-583. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.03.006>
3. Kontou N., Psaltopoulou T., Panagiotakos D., Dimopoulos M. A., Linos A. The mediterranean diet in cancer prevention: a review // *Journal of medicinal food*. 2011. V. 14. №10. P. 1065-1078. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0244>
4. Garcia A., Bocanegra-Garcia V., Palma-Nicolas J. P., Rivera G. Recent advances in antitubercular natural products // *European journal of medicinal chemistry*. 2012. V. 49. P. 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.12.029>
5. Ferrazzano G. F., Amato I., Ingenito A., Zarrelli A., Pinto G., Pollio A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review // *Molecules*. 2011. V. 16. №2. P. 1486-1507. <https://doi.org/10.3390/molecules16021486>
6. Saleem M., Nazir M., Ali M. S., Hussain H., Lee Y. S., Riaz N., Jabbar A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates // *Natural product reports*. 2010. V. 27. №2. P. 238-254. <https://doi.org/10.1039/B916096E>
7. Hemaiswarya S., Kruthiventi A. K., Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases // *Phytomedicine*. 2008. V. 15. №8. P. 639-652. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.06.008>
8. Ebrahimi A., Schluesener H. Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: potentials and pitfalls // *Ageing research reviews*. 2012. V. 11. №2. P. 329-345. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.01.006>

9. Egert S., Rimbach G. Which sources of flavonoids: complex diets or dietary supplements? // *Advances in Nutrition*. 2011. V. 2. №1. P. 8-14. <https://doi.org/10.3945/an.110.000026>
10. Лесовая Ж. С., Писарев Д. И., Новиков О. О., Романова Т. А. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве манжетки обыкновенной *Alchemilla vulgaris* Lsl // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2010. Т. 12. №22 (93). С. 145-149.
11. Химическая энциклопедия: В 5 т.: т. 2: Даффа-Меди / Редкол.: Кнунянц И. Л. (гл. ред.) и др. М.: Сов. энцикл., 1990. 671 с.
12. Тихонов Б. Б., Сидоров А. И., Сульман Э. М., Ожимкова Е. Комплексная экстракция гликанов и флавоноидов из растительного сырья // *Вестник ТвГТУ*. 2011. Т. 128. №19. P. 57-63.
13. Башилов А. В., Спиридович Е. В. Количественное экстракционно-спектрофотометрическое определение флавоноидов в экстрактивных веществах представителей рода *Filipendula* Mill и *Polemonium caeruleum* L. // *Труды Белорусского государственного университета*. 2006. Т. 1. Ч. 1. С. 221-225.
14. Лобанова А. А., Будаева В. В., Сакович Г. В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // *Химия растительного сырья*. 2004. №1. С. 47-52.

#### References:

1. Tarakhovskiy, Yu. S., Kim, Yu. A., Abdrasilov, B. S., & Muzafarov, E. N. (2013). Flavonoidy: biokhimiya, biofizika, meditsina. Pushchino, Sunchrobook, 310. (in Russian).
2. Urpi-Sarda, M., Casas, R., Chiva-Blanch, G., Romero-Mamani, E. S., Valderas-Martínez, P., Arranz, S., ..., & Estruch, R. (2012). Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacological research*, 65(6), 577-583. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.03.006>
3. Kontou, N., Psaltopoulou, T., Panagiotakos, D., Dimopoulos, M. A., & Linos, A. (2011). The Mediterranean diet in cancer prevention: a review. *Journal of medicinal food*, 14(10), 1065-1078. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0244>
4. García, A., Bocanegra-García, V., Palma-Nicolás, J. P., & Rivera, G. (2012). Recent advances in antitubercular natural products. *European journal of medicinal chemistry*, 49, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.12.029>
5. Ferrazzano, G., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G., & Pollio, A. (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16(2), 1486-1507. <https://doi.org/10.3390/molecules16021486>
6. Saleem, M., Nazir, M., Ali, M. S., Hussain, H., Lee, Y. S., Riaz, N., & Jabbar, A. (2010). Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Natural product reports*, 27(2), 238-254. doi:10.1039/B916096E
7. Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A. K., & Doble, M. (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15(8), 639-652. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.06.008>
8. Ebrahimi, A., & Schluesener, H. (2012). Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: potentials and pitfalls. *Ageing research reviews*, 11(2), 329-345. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.01.006>
9. Egert, S., & Rimbach, G. (2011). Which sources of flavonoids: complex diets or dietary supplements?. *Advances in Nutrition*, 2(1), 8-14. <https://doi.org/10.3945/an.110.000026>

10. Lesovaya, Zh. S., Pisarev, D. I., Novikov, O. O., & Romanova, T. A. (2010). Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredeleniya flavonoidov v trave manzhetki obyknovennoy *Alchemilla vulgaris* L. S. L. [Development of methods of quantitative determination of flavonoids in *Alchemilla vulgaris* L.S.L.]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*, 12(22), 145-149. (in Russian).

11. Khimicheskaya entsiklopediya (1990). Moscow, 671. (in Russian).

12. Tikhonov, B. B., Sidorov, A. I., Sulman, E. M., & Ozhimkova, E. V. (2011). Kompleksnaya ekstraktsiya glikanov i flavonoidov iz rastitel'nogo syr'ya. *Vestnik TvGTU*, 128(19), 57-63. (in Russian).

13. Bashilov, A. V., & Spiridovich, E. V. (2006). Quantitative extract - spectrophotometric determination of flavonoids in extractive substances, represented by sort of *Filipendula* MILL. and *Polemonium caeruleum* L. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*, 1, Part 1, 221-225. (in Russian).

14. Lobanova, A. A., Budaeva, V. V., & Sakovich, G. V. (2004). Issledovanie biologicheskii aktivnykh flavonoidov v ekstraktakh iz rastitel'nogo syr'ya. *Chemistry of plant raw material*, (1), 47-52. (in Russian).

Работа поступила  
в редакцию 12.09.2019 г.

Принята к публикации  
17.09.2019 г.

---

Ссылка для цитирования:

Саруханов А. В., Морозова А. И., Васильева Н. А., Крыленкин Д. В. Определение содержания флавоноидов в облученных образцах посредством спектрофотометрического анализа // Бюллетень науки и практики. 2019. Т. 5. №10. С. 32-39. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/04>

Cite as (APA):

Sarukhanov, A., Morozova, A., Vasilyeva, N., & Krylenkin, D. (2019). Flavonoid's Content Determination in Irradiated Samples via Spectrophotometric Analysis. *Bulletin of Science and Practice*, 5(10), 32-39. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/04> (in Russian).