

АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ГРУПП БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАПСА (*BRASSICA NAPUS* L.), ВЫРАЩЕННОГО В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКОГО СТРЕССА

Н.В. Кудашкина¹, Е.Н. Елизарьева², Е.В. Красюк¹, Т.П. Смирнова², С.Р. Хасанова¹

¹Башкирский государственный медицинский университет (г. Уфа),

²Башкирский государственный университет (г. Уфа)

Analysis of some groups of biologically active substances of rape (*Brassica napus* L.) grown in conditions of chemical stress

N.V. Kudashkina¹, E.N. Elizaryeva², E.V. Krasuk¹, T.P. Smirnova², S.R. Khasanova¹

¹Bashkir State Medical University (Ufa, Russia),

²Bashkir State University (Ufa, Russia)

РЕЗЮМЕ

В статье рассмотрены вопросы влияния химического стресса на содержание биологически активных веществ в траве рапса. Количественное содержание дубильных веществ, флавоноидов и полисахаридов определяли, используя известные фармакопейные методики. В результате проведенных исследований установлено, что в листьях рапса в условиях химического стресса происходит увеличение суммы окисляемых соединений и полисахаридов, а содержание флавоноидов практически не изменяется.

Ключевые слова: химический стресс, тяжелые металлы, листья рапса, дубильные вещества, флавоноиды, полисахариды.

RESUME

The article deals with the effects of chemical stress on the content of biologically active substances in rapeseed leaves. The quantitative content of tannins, flavonoids and polysaccharides was determined using well-known pharmacopoeias techniques. As a result of the research, it was established that the amount of oxidizable compounds and polysaccharides in the leaves of rapeseed under chemical stress increases, while the content of flavonoids practically does not change.

Keywords: chemical stress, rapeseed leaves, tannins, flavonoids, polysaccharides.

АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время представители семейства капустных являются перспективными источниками для получения препаратов, обладающих противоязвенным, гипотензивным, желчегонным и другими видами действий. Растения данного семейства содержат уникальные природные соединения, такие как аскорбинген, сульфорафан и пищевые индолы, которые обладают противоопухолевыми свойствами [14, 15, 16, 18].

Рапс (*Brassica napus* L.) относится к масличным и кормовым культурам из семейства крестоцветных и на сегодняшний день остается одним из самых востребованных масличных растений, как на российском, так и на мировом рынке [11]. В отличие от многих других культурных растений, рапс не имеет дикорастущего предка. В культуре это растение

было известно за 4 тысячи лет до н.э. Рапс произошёл от скрещивания капусты полевой или сурепицы (*Brassica campestris*) с капустой огородной (*Brassica oleracea*) [8]. Хотя в России рапс начали выращивать еще в начале XIX века, но об этой культуре большинству россиян мало что известно.

Рапс относится к возобновляемым источникам энергии и сырья, который может и должен занимать значительное место среди ведущих масличных культур, производимых в России. Доказана целесообразность и перспективность его применения и в севооборотах, так как он улучшает структуру почвы и удобряет ее благодаря своей развитой корневой системе [9]. Экономическое значение рапса к концу XX века существенно выросло в связи с тем, что данное растение стали активно использовать для получения биодизеля [13]. В состав травы

рапса и рапсового масла входит большое количество ненасыщенных жирных кислот, которые играют большую роль в регулировании жирового обмена, снижая уровень холестерина, возможность тромбообразования и ряда других заболеваний, в том числе опухолевых. Поэтому исследование данного растения является актуальным не только для биологии в целом, но и для использования в медицине.

Рапс – это однолетнее травянистое растение семейства крестоцветных *Brassicaceae*. Корневая система стержневая, развита мощно. Стебель высотой 100–200 см, сильно ветвистый, прямостоячий, облиственный, в поперечном сечении круглый, довольно прочный. Окраска светло-зеленая с антоциановым оттенком и восковым налетом. Верхние листья у рапса удлинено-ланцетовидные с расширенным основанием, охватывающим наполовину стебель. Нижние листья – черешковые, по черешку и краям покрыты щетинистыми волосками. Листья покрыты восковым налетом серо-зеленой или сизо-фиолетовой окраски. Соцветие – рыхлая удлиненная кисть, отцветающая с низа до верха (рис. 1). Цветки желтые, правильные, обоеполые. Одно растение образует до 500 цветков. Плод – согнутый или прямой стручок длиной 6–14 см, на одном растении насчитывается от 200 до 300 стручков. Стручки гладкие или слабобугорчатые [10].

В химическом отношении рапс обыкновенный богат биологически активными веществами различных групп. В семенах рапса содержится до 40–45 % жира и до 25–30 % белка. Рапсовое масло обладает высокими пищевыми достоинствами, а по вкусовым качествам и жирнокислотному составу приближается к оливковому. В состав рапса входит большое количество ненасыщенных жирных кислот, которые играют большую роль в регулирова-

нии жирового обмена, снижая уровень холестерина, возможность тромбообразования и ряда других заболеваний. В нем также содержатся флавоноиды, азотистые (производные индола), серосодержащие соединения (глюкозинолаты) и др. [5, 6].

Неблагоприятные факторы внешней среды или деятельности человека могут в той или иной степени влиять на накопление биологически активных веществ в растениях. Установлено, что некоторые поллютанты, в частности тяжёлые металлы, могут способствовать увеличению синтеза БАВ в растениях. Показано, например, увеличение содержания глюкозинолатов – основного БАВ растений семейства *Brassicaceae* [17].

С другой стороны, одним из факторов, уменьшающих площадь земель, пригодных для нужд сельского хозяйства, является их загрязнение высокими концентрациями тяжелых металлов (ТМ) вследствие активной промышленной деятельности человека (Ильин, 1991; Schuetzenduebel et al., 2002). Различные виды растений обладают разной устойчивостью к действию тяжелых металлов. Это обеспечивается функционированием специализированных механизмов на различных уровнях организации. Основная задача всех этих механизмов – изоляция токсичных концентраций металлов от метаболически активных компарментов клетки (Радионон, 2008).

Использование растений с целью восстановления загрязненных тяжелыми металлами почв называется фиторемедиацией (Chaney et al., 1997). Главным ее недостатком является относительно небольшая биомасса большинства растений – гипераккумуляторов и низкая скорость роста. Поэтому особый интерес представляет изучение таких видов растений, как, например, рапс, которые способны формировать значительную биомассу и накапливать в больших концентрациях тяжелые металлы.

Развитие промышленности, энергетики, транспорта и деятельности человека негативно сказывается на экологическом состоянии окружающей среды и на накоплении биологически активных веществ. При этом установлено, что тяжелые металлы способствуют увеличению синтеза биологически активных веществ в растениях. Примером являются представители растений семейства *Brassicaceae*, у которых под действием химического стресса увеличивается содержание глюкозинолатов – основного биологически активного вещества [11]. Поэтому возрос интерес к определению



Рис. 1. Рапс (ботаническая иллюстрация и соцветие).

биологически активных веществ в листьях рапса, собранного на чистых и загрязненных территориях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы сырья рапса (*Brassica napus*) трех сортов (Builder (Bu), Brander (Br), Highlight (H), выращенные в 2018 году на почвах, отобранных в зоне влияния следующих предприятий: ЗАО «Карабашмедь» (на расстоянии 1,5 км от предприятия), АО «Саткинский чугуноплавильный завод» (на расстоянии 2 км от предприятия) и ОАО «Учалинский горно-обогатительный комбинат» (на расстоянии 1,2 км от предприятия). Фоновой пробой являлись образцы рапса, выращенные в Благоварском районе, отобранные вне сферы локального антропогенного воздействия. Во все варианты опыта (включая фоновые) были внесены минеральные удобрения в виде нитроаммофоски из расчета N120P120K120. Образцы выращивали в трех вариантах эксперимента: в загрязненных почвах (Учалы Bu, Br и H; Карабаш Bu, Br и H; Сатка Bu, Br и H) и в фоновой почве (фон Bu, Br и H). В почвах после кислотного разложения атомно-абсорбционным методом определяли содержание валовых форм тяжелых металлов: Mn, Fe, Cd, Cu, Zn.

В листьях рапса количественно определяли следующие группы биологически активных веществ: дубильные вещества, флавоноиды и полисахариды. Количественное определение дубильных веществ проводили титриметрическим методом – перманганатометрией, согласно Государственной Фармакопее XIII издания ОФС.1.5.3.0008.15 [4]. Определение количественного содержания флавоноидов проводили методом дифференцированной спектрофотометрии при длине волны 410 нм [2]. Количественное содержание полисахаридов определяли гравиметрическим методом, согласно Государственной Фармакопее XIII издания ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листья».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Степень загрязнения почв рассчитывали по отношению к региональному геохимическому фону (РГФ) [1] и к показателям ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) химических веществ в почве (для Fe – к величине кларка в земной коре) [3] (табл. 1).

В табл. 1 цветом выделено превышение ОДК. Видно, что содержание тяжелых метал-

Таблица 1

Валовые концентрации тяжелых металлов в исследуемых пробах почв до выращивания рапса и нормативы, мг/кг

Место отбора почвы	Fe	Zn	Cu	Mn
Фон	22484,00	29,60	23,59	590,00
Учалы	32188,00	125,80	365,00	895,00
Карабаш	15375,00	1565,00	1204,00	965,00
Сатка	12063,00	13,40	34,20	523,00
ОДК	25000,00*	55,00	33,00	1500,00
РГФ	37100,00	223,00	49,00	1060,00

Таблица 2

Коэффициент концентрации K_с и его ранжирование по В.В. Добровольскому

Место отбора почвы	Fe	Zn	Cu	Mn
Учалы	0,87	0,56	7,45	0,84
Карабаш	0,41	7,02	24,57	0,91
Сатка	0,33	0,06	0,70	0,49
РГФ	37100	223	49	1060
Обозначения:		Природная флюктуация (K _с < 5)		
		Слабое загрязнение (5 < K _с < 10)		
		Умеренное загрязнение (10 < K _с < 30)		
	xxx	Сильное загрязнение (K _с > 30)		

лов в фоновой пробе по всем показателям не превышает ОДК валовых форм.

Содержание валовых форм тяжелых металлов в исследованных почвах можно про ранжировать в порядке снижения следующим образом: железо, марганец, медь, цинк.

Так, концентрация марганца не превышает установленных нормативов во всех исследованных почвах. Наибольшее превышение ОДК всех металлов наблюдается для почвы из Карабаша: Zn – 28,5 ОДК; Cu – 36,5 ОДК. В почве из Учалов: Fe – 1,3 ОДК; Zn – 2,3 ОДК; Cu – 11 ОДК. Наименьшее превышение нормативов установлено в образцах из Сатки: Cu – 1,04 ОДК.

Оценим интенсивность загрязнения металлами гумусового горизонта почв с помощью коэффициента концентрации K_с (коэффициента аномальности по В.В. Добровольскому [7]) каждого из элементов относительно фона:

$$K_c = C_i / C_{fi}$$

где C_{fi} и C_i – фоновое (региональный геохимический фон) и фактическое содержание i-ого элемента в почве.

Результаты приведены в табл. 2.

Отношение содержания валовых форм ТМ к их региональному фону показывает, что в изучаемых почвах в пределах природной

флюктуации находится валовое количество большинства металлов. Слабый уровень загрязнения почвы медью (Учалы) и цинком (Карабаш), умеренное загрязнение – медью (Карабаш).

Таким образом, по степени загрязненности тяжелыми металлами почвы можно проранжировать в порядке уменьшения следующим образом: Карабаш, Учалы, Сатка.

Далее определяли содержание биологически активных веществ в листьях рапса.

Количественное содержание дубильных веществ проводили титриметрическим методом. Полученные результаты представлены на диаграмме (рис. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание дубильных веществ в исследуемых образцах листьев рапса составило от $0,22 \pm 0,01$ до $0,91 \pm 0,04$.

При этом можно отметить, что содержание дубильных веществ в листьях различных образцов рапса, выращенных на почве фоновой территории, составляет от 0,22 % до 0,32 %, а в сырье рапса, выращенного на почвах территорий, загрязненных тяжелыми металлами, – от 0,34 % до 0,91 %.

Количественное содержание флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии и рассчитывали их содержание в пересчете на рутин. Образцы рапса, выращенного в Карабаше, не исследовали, т.к. растения были сильно угнетены, и сухой массы растений было недостаточно для проведения анализа. Результаты исследования на рис. 3.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание флавоноидов в исследуемых образцах листьев рапса составило от $0,22 \pm 0,01$ до $0,56 \pm 0,02$.

При этом можно отметить, что содержание флавоноидов в листьях различных образцов рапса, выращенных на почве фоновой территории, составляет от 0,23 % до 0,28 %, а в сырье рапса, выращенного на почвах территорий, загрязненных тяжелыми металлами, – от 0,22 % до 0,56 %.

Анализ полученных данных показывает, что химический стресс оказывает незначительное влияние на содержание флавоноидов в листьях рапса.

Количественное содержание полисахаридов проводили гравиметрическим методом. Результаты исследования представлены на рис. 4.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание полисахаридов в исследуемых образцах листьев рапса составило от $12,27 \pm 1,64$ до $41,89 \pm 1,64$.

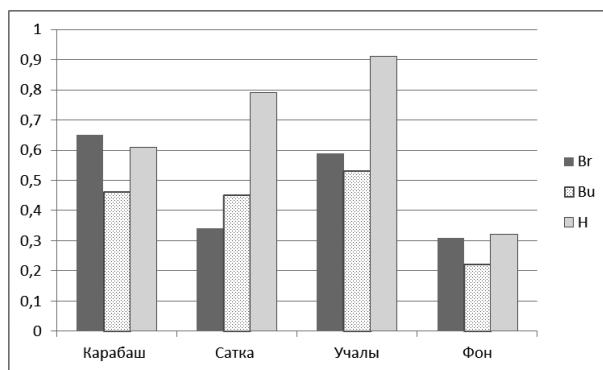


Рис. 2. Диаграмма количественного содержания дубильных веществ в листьях рапса, %.

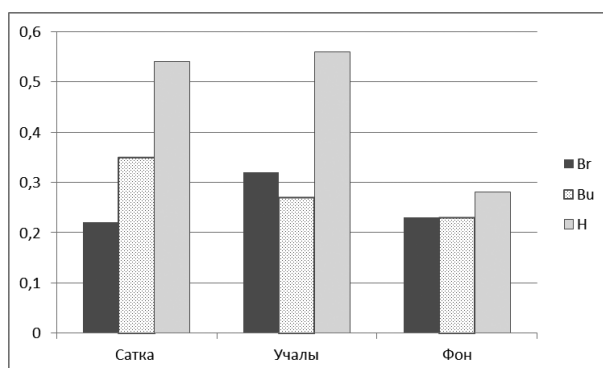


Рис. 3. Диаграмма количественного содержания флавоноидов в листьях рапса, %.

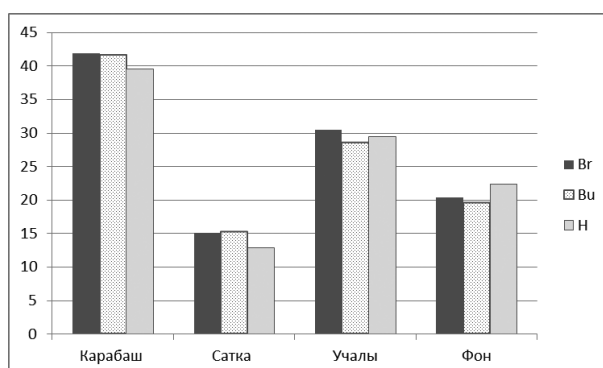


Рис. 4. Диаграмма количественного содержания полисахаридов в листьях рапса, %.

данных образцов листьев рапса составило от $12,27 \pm 1,64$ до $41,89 \pm 1,64$.

При этом можно отметить, что содержание полисахаридов в листьях различных образцов рапса, выращенных на почве фоновой территории, составляет от 19,49 % до 22,38 %, а в сырье рапса, выращенного на почвах территорий, загрязненных тяжелыми металлами, – от 12,27 % до 41,89 %.

Анализ полученных данных показывает, что химический стресс оказывает влияние на содержание полисахаридов в листьях рапса большей частью в сторону увеличения содержания последних.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных экспериментальных исследований было установлено, что в условиях химического стресса в листьях рапса происходит увеличение суммы окисляемых соединений и полисахаридов. При этом химический стресс незначительно влияет на содержание флавоноидов в листьях рапса. Корреляция между степенью загрязнения почв и количеством биологических веществ в листьях рапса не выявлена.

ВЫВОДЫ

1. Проведено сравнительное фитохимическое исследование листьев рапса, выращенного на фоновой почве и в условиях химического стресса, на содержание дубильных веществ, флавоноидов и полисахаридов.
2. Химический стресс оказывает влияние на содержание дубильных веществ и полисахаридов в листьях рапса большей частью в сторону увеличения содержания последних.
3. Химический стресс оказывает незначительное влияние на содержание флавоноидов в листьях рапса.
4. Проведенные исследования показали целесообразность дальнейшего фитохимического изучения рапса в качестве источника биологически активных соединений для создания отечественных лекарственных препаратов, обладающих различной фармакологической активностью.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-44-020574.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алибаева Л.Г., Кулагин А.Ю. Оценка уровня загрязнения тяжелыми металлами аллювиальных почв рек Башкирского Зауралья // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2012. – №2. – С.3–9.
2. Беликов, В.В., Колесник, Н.Т. А. с. СССР № 1507394. Способ количественного определения флавоноидов в растительном сырье. – 1989.
3. ГН 2.1.7.2511-09 «Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве». – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 5 с.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2015. – Ч.3. – 1294 с. – Режим доступа: <http://www.femb.ru/feml>.
5. Гринкевич Н.И., Сафронович Л.Н. Химический анализ лекарственных растений. – М.: Высш. шк., 1983. – 162 с.
6. Гудвин Т., Мерсер Э.М. Введение в биохимию растений. – Мир, 1986. – Т. 1. – 392 с.
7. Добровольский В.В. Ландшафтно-геохимические критерии оценки загрязнения почвенного покрова тяжелыми металлами // Почвоведение. – 1999. – №5. – С.639–645.
8. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. – Л.: Колос, 1971. – 751 с.
9. Нурлыгаянов Р.Б., Мерзликин А.С., Давлетшин Д.С. и др. Рапс – техническая культура // Проблемы и перспективы развития инновационной деятельности в агропромышленном производстве: материалы Всероссийской научно – практической конференции. – Уфа: БГАУ, 2007. – С. 67–71.
10. Осипова Г.М., Потапов Д.А. Рапс: (особенности биологии, селекция в условиях Сибири и экологические аспекты использования). – Рос. акад. с.-х. наук, Сиб. отд-ние. – Новосибирск, 2009. – 132 с.
11. Российский рынок семян рапса, рапсового масла и рапсового шрота в январе – августе 2014 года / Экспертно - аналитический центр агробизнеса «АБ - Центр»: 2015 – 84.
12. Старых А.И. Физические и посевные качества семян ярового рапса при разных условиях выращивания и хранения: автореф. дис... канд. с.-х. наук. – Тюмень, 2002. – 17 с.
13. Харламов С.А. Применение современных сельскохозяйственных машин для возделывания рапса на биотопливо // Научное обеспечение отрасли рапсовосеяния и пути реализации биологического потенциала рапса: научные доклады на международном координационном совещании / ВНИИ рапса. – Липецк, 2010. – С.181–184.
14. Durkeet A.B., Jeffrey B. Harborne. Flavonol glycosides in Brassica and Sinapis // Phytochemistry. – 1973. – Vol. 12, № 5. – P.1085–1089.
15. Baumert A. et al. Formation of complex pattern of sinapate esters in Brassica napus seeds, catalyzed by enzymes of aserine carboxypeptidase-like acyltransferase family // Phytochemistry. – 2005. – Vol. 66, №11. – P.1334–1345.
16. Katsunori S., Takashi T. A flavanoid from Brassica rapa flower as the UV-adsorbing nectar guide // Science Direct. – Phytochemistry. – 2002. – Vol. 61, №3. – P.339–343.
17. Kusznerewicz B., Bączek-Kwinta R., Bartoszek A., Piekarska A. et al. The dose-dependent influence of zinc and cadmium contamination of soil on their uptake and glucosinolate content in white cabbage (Brassica oleracea var. Capitata f. Alba) // Environmental Toxicology and Chemistry. – 2012, Vol.31(11): 2482–9.
18. Susan Marles M.A. et al. Pigmentation in the developing seed coat and seedling leaves of Brassica carinata is controlled at the dihydroflavonol reductase locus // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 62, №5. – P.663–672.

Адрес автора

Д.фарм.н. Кудашкина Н.В., профессор, ведущий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии
phytoart@mail.ru