УДК 636.085.16: 582.931.4
DOI: 10.25684/0513-1634-2023-147-49-56

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ *OLEA EUROPAEA* L.

Оксана Геннадьевна Белоус [1], Александра Владимировна Паштецкая [2], Наталия Борисовна Платонова[1]

[1]Федеральный исследовательский центр
«Субтропический научный центр Российской академии наук»
354002, Россия, Краснодарский край, г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса, 2/28
[2] Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, Никитский спуск, 52
E-mail: oksana191962@mail.ru[1], oksana_shevchuk1970@mail.ru[2]

Спектрофотометрически определен компонентный состав ряда биологически активных веществ в листьях *Olea europaea* L., произрастающих в коллекции Никитского ботанического сада. Суммарное содержание полифенолов в среднем составляет 538,94 мг/100 г сухой массы. Основными флавоноидами листьев являются антоцианидины, флаваноны (197,1 мг/100 г) и флаванолы (299,7 мг/100 г). Из антоцианидинов наиболее представлены пеларгонидины (184,0 мг/100 г) и цианидины (160,1 мг/100 г), содержание остальных антоцианов на одном уровне – в среднем 18% от суммы всех антоцианов. Количество фотосинтетических пигментов составляет 0,43±0,02 мг/г (хлорофилл *b*), 1,32±0,07 мг/г (хлорофилл *a*) и 0,40±0,02 мг/г (сумма каротиноидов). Содержание антоцианидинов отрицательно коррелирует с количеством хлорофиллов и каротиноидов. Анализ и идентификация биологически активных веществ в листьях *Olea europaea* продолжатся, что позволит оценить фармакологическую значимость данной культуры в условиях ЮБК.

Ключевые слова: *Olea europaea* L.*; маслина; листья; биологически активные вещества; флавоноиды; антоцианы; каротиноиды*

Введение

В последнее время все большую актуальность приобретают исследования химического состава растительного сырья. Цель подобных исследований связана, во-первых, с определением пищевкусового значения тех или иных растений, во-вторых, с оценкой возможности использования растительного сырья в качестве источника ценных для человека антиоксидантов. В этом отношении больший интерес представляют субтропические растения, содержащие комплекс биологически активных веществ различной природы: витаминов, полифенолов, алкалоидов и т.д. Особую ценность представляет культура *Olea europaea* L. (олива, маслина), химический состав которой достаточно богат биологически активными веществами, в том числе, насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами, жирорастворимыми витаминами А, Е, К и водорастворимыми витаминами группы В, глицеридами и др. [17, 20].

Однако, основные исследования в отношении химического состава оливы касаются плодов и, получаемого из них, оливкового масла, в то время как листья как правило не рассматриваются. В то же время, известно, что листья оливы, являющиеся побочным продутом при сборе плодов и обрезке, обладают большим биологическим потенциалом [7].

Известно, что листья *Olea europaea* содержат большой спектр фенольных соединений, более того, их количество превышает накопление данных веществ в плодах и оливковом масле, а также, превосходит содержание фенольных компонентов в листьях *Camellia sinensis* L. [5, 6, 14, 23]. Основными фенольными компонентами листьев оливы являются секоиридоиды, флавоноиды и простые фенолы, такие как олеуропеин,

лютеолин, лютеолин-7-О-глюкозид и гидрокситирозол [7, 12, 16, 19-22]. Исследования ученых из Крымского федерального университета позволили обнаружить в листьях и плодах оливы вещества, участвующие в ингибировании раковых клеток [4], также зарубежными исследованиями подтверждается антипролиферативное действие веществ, входящих в состав листьев, что может способствовать повышению эффективности лечения злокачественных опухолей, поддерживая нормальное восстановление ДНК [7].

В данной связи изучение химического состава листьев оливы, произрастающей в условиях ЮБК, и выявление особенностей накопления в них БАВ достаточно перспективная, актуальная задача.

Объекты и методы исследования

Листья были собраны с маслины европейской (*Olea europeae* L.) сорта 'Никитская' (*Nichitskaia*) (рис. 1 А) селекции Никитским ботаническим сада [10].

Листья сравнительно небольшие, длиной 4,9, шириной 1,1 см, заостренно-ланцетовидные, наибольшая ширина ближе к вершине, сверху темно-зеленые, кожистые; расположение супротивное [11].

Сбор материала для исследований проводился в период сбора плодов маслины (вторая декада октября). Растения выращиваются на территории Никитского ботанического сада в условиях сухого субтропического климата средиземноморского типа Южного берега Крыма. Сушка листьев проводилась при комнатной температуре (рис. 1 Б).

А Б

Рис. 1 Маслина сорта 'Никитская' (А), лист маслины сорта 'Никитская' (Б)

Изучение содежания биологически активных веществ проводили на базе отела физиологии и биохимии растений ФИЦ СНЦ РАН (Сочи, Россия). Определяли полярные соединения (полифенолы, флавоноиды, антоцианы) и неполярные (каротиноиды и хлорофиллы). Все определения проводили спектрофотометрически на спектрофотометре ПЭ-5400ви (Россия).

Суммарное содержание полифенолов определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу в качестве группового реагента [3]. Метод основан на образовании вольфрамовой сини, которая имеет полосу поглощения с максимумом 765 нм.

Содержание хлорофилла и каротиноидов определяли методом Шлыка [9] по спектрам поглощения (длины волн для хлорофилла a – 662 нм, хлорофилла b – 644 нм, суммы каротиноидов – 440,5 нм) с использованием расчетных формул Смита и Бенитеза (при экстрагировании 96%-м этанолом).

Сумму флавоноидов оценивали в водно-спиртовом экстракте из сухих листьев спектрофотометрически в диапазоне длин волн коротковолновых максимумов в пересчете содержания флавоноидов на рутин [8].

Количество и состав антоцианов – в 1%-ном солянокислом водном экстракте, для внесения поправок на содержание зеленых пигментов определяли оптическую плотность полученных экстрактов при длине волны 657 нм. Содержание антоцианов рассчитывали по цианидин-3,5-дигликозиду и выражали в мг/г сухого веса [8].

Все эксперименты проводились в трехкратной повторности, результаты выражены в виде среднего ± стандартного отклонения. Статистический анализ результатов исследований проведен с применением пакета статистических программ STATGRAPHICS Centurion XV и математического пакета программ MS Excel с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Отличия при $p<0.05$ считались статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

Olea europaea L. (олива европейская, маслина) – субтропическое вечнозеленое дерево – относится к роду Olea (Маслина) семейства Oleaceae (Маслиновые); интродуцент из юго-восточного Средиземноморья. Растения с древности возделывается в основном для получения оливкового масла. Листья оливы простые, почти сидячие, кожистые, узколанцетные, цельнокрайние, серо-зелёные, снизу серебристые. Как упоминалось ранее, листья являются побочным продуктом, получаемым при сборе урожая или обрезке. В последнее время сухие листья оливы стали использовать в качестве витаминизированного, биологически активного сырья для приготовления настоев, в косметологии, фармакологии и пр.

Полифенолы являются достаточно распространёнными биологически активными соединениями, содержащимися в растительных объектах. Полифенолы подразделяются на группы в зависимости от строения молекулы – фенольные кислоты, стильбены, флавоноиды, лигнаны. Наиболее богаты полифенолами субтропические культуры. Нами показано, что суммарное количество полифенолов в экстракте листьев оливы составляет в среднем 538,94±80,7 мг/100 г сухой массы [21].

Среди полифенолов наиболее многочисленной группой являются флавоноиды, которые представляют интерес с позиции их антиоксидантной активности и участия в качестве компонентов, предотвращающих или тормозящих образование опухолей, укрепляющих кровеносные сосуды, являющихся биологически активными добавками в лечебном и диетическом питании [1, 18].

В листьях оливы представлены следующие классы флавоноидов – флаваноны, группа флавоноидов, содержащих один асимметрический атом углерода; флаванонолы,

содержащие два асимметрических атома углерода. Определены флавоны распространенная группа флавоноидов, имеющих, светло-желтую, желтую или желто-зеленую окраску. Также представлены изофлавоны и халконы. В следовых количествах найдены флавоноиды, характерные для листьев растений чая, теафлавины и теарубигины и большая представленность флавоноидов из группы антоцианидинов (рис. 2 и 3). Среди флавоноидов (за исключением антоцианидинов, о которых будет сказано ниже) наиболее представленным классом являются флаванолы и флаваноны, на долю которых приходится от 2,2 до 3,4% (в среднем 248,4 мг/100 г сухой массы). Остальные классы флаваноидов распределяются в листьях *Olea europaea* равномерно, составляя в среднем 35,61 мг/100 г. И только на долю флавоноидов катехиновой группы (теафлавинов и теарубигинов) приходится всего 1,99 мг/100 г сухой массы (рис. 2).

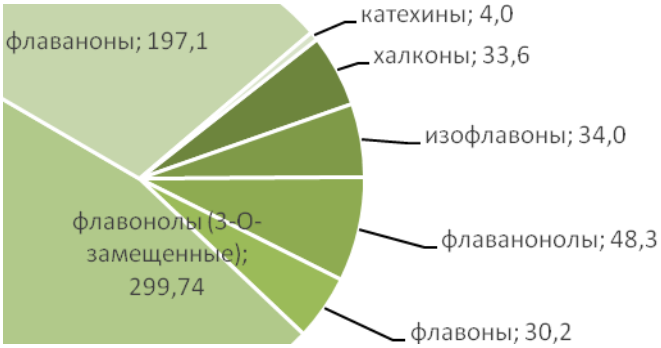

Рис. 2 Содержание флавоноидов в листьях *Olea europaea* L., мг/100 г сухой массы

Класс антоцианидинов представлен в растениях в виде гликозидов (антоцианов), наиболее часто встречается цианидин. Однако, нами определено, что в листьях оливы из антоцианов наиболее представлен пеларгонидин, количество которого составляет 184,0 мг/100 г, в то время как на цианидин приходится только 160 мг/100 г. В итоге, в ранжире по уменьшению содержания располагаются цианидин > дельфинидин > мальвидин > пеонидин-3-глюкозид (рис. 2). Содержание этих групп антоцианов в 1,2-1,3 раза меньше, чем пеларгонидина. Известно, что этот антоциан обладает антиканцерогенной активностью [17], недавние исследования, проведенные крымскими учеными, вполне могут быть связны, в том числе, и с большим содержанием пеларгонидина в листьях оливы.

Еще одно важная в биоактивном плане группа — это каротиноиды, относящиеся к тетратерпенам и представляющие собой группу природных пигментов. Каротиноиды в растениях находятся в форме трех изомеров, наиболее распространенным из которых является β-каротин. Нами определено, что содержание каротиноидов в листья оливы составляет в среднем от 0,37 до 0,45 мг/г сухой массы. Суммарное количество зеленых пигментов варьировало в пределах 1,75±0,09 мг/г сухой массы.

Между содержанием антоцианов и фотосинтетическими пигментами существует закономерная связь, выражающаяся в том, что антоцианы являются элементами нефотохимической защиты фотосинтетического аппарата [2]. Так, в работах Feild et al. (2001) показано, что антоцианы предохраняют разрушенный хлорофилл от воздействия световых лучей, ограничивая формирование радикалов кислорода [13].

Учитывая, что *O. europaea* произрастает в регионах с высоким уровнем инсоляции, нам заинтересовал вопрос о том, какая связь наблюдается между

содержанием антоцианов в листьях и количеством фотосинтетических пигментов. Анализ показал, что корреляция достаточно тесная (r = -0.75), причем высокое содержание антоцианов сопровождается более низким количеством каротиноидов и одновременно, коррелирует с низким уровнем зеленых пигментов (r = -0.80) (рис. 3).

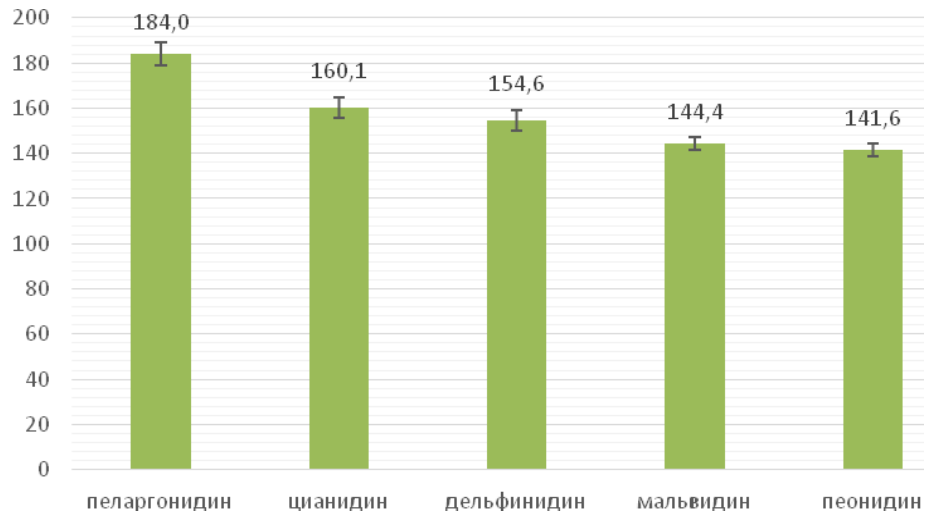

Рис. 3 Антоцианы листьев *Olea europaea* L., мг/100 г сухой массы

Помимо этого, анализ и идентификация биологически активных веществ в листьях *Olea europaea* L. продолжатся. Нами проведен анализ содержания летучих эфирных масел и в данный момент идет определение жирных кислот, как элементов-предшественников эфирных компонентов, что позволит установить особенности компонентного состава и оценить фармакологическую значимость данной культуры в условиях ЮБК.

Заключение

Таким образом, нами проведен анализ биологически активных веществ в листьях *Olea europaea* L., произрастающей в Никитском ботаническом саду (пгт Никита, Республика Крым). Предварительные исследования показали, что в листьях содержится большая группа фенольных соединений, наиболее представленная флаваноидами из класса антоцианидинов (в среднем по группам 154,5 мг/100 г сухой массы), флаванонов (197,1 мг/100 г) и флаванолов (299,7 мг/100 г). Из антоцианидинов наиболее представлена группа пеларгонидина (184,0 мг/100 г сухой массы). Высокое содержание антоцианов коррелирует с пониженным количеством фотосинтетических пигментов (r = 0.7-0.8).

Благодарность

Авторы выражают благодарность заведующему отделом плодовых культур, к.с.-х.н. Сергею Юрьевичу Хохлову и куратору коллекции маслины, старшему научному сотруднику лаборатории южных плодовых и орехоплодных культур, к.с.-х.н.Сергею Юрьевичу Цюпке за содействие в проведении исследований

Список литературы

1. *Каримов А.М., Ботиров Э.Х., Маматханов А.У., Сагдуллаев Ш.Ш.* Флавоноиды растений рода *Scutellaria* L. – Ташкент: ИХРВ, НГУ Министерства высшего и среднего специального образования Республики Узбекистан. – 2016. – 125 с.

2. *Макаревич А.М., Шутова А.Г., Спиридович Е.В., Решетников В.Н.* Функции и свойства антоцианов растительного сырья // Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2009. – Т. 4, вып. 2. – С. 147-157.

3. *Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В.* Метод определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина-Дениса и реактивом Фолина-Чокальтеу: модификация и сравнение // Химия растительного сырья. – 2021. – № 2. – С. 291-299. DOI: 10.14258/jcprm.2021028250.

4. Олива против рака: учёные КФУ провели анализ оливкового масла собственного производства, 2022. – [Электронный ресурс] – URL: https://cfuv.ru/news/oliva-protiv-raka-uchjonye-kfu-proveli-analiz-olivkovogo-masla-sobstvennogo-proizvodstva

5. *Палий А.Е., Палий И.Н., Старцева О.В.* Сравнительное исследование фенольных соединений листьев и плодов *Olea europaea* L. // Химия растительного сырья. – 2020. – № 2. – С. 141-148. DOI: 10.14258/jcprm.2020025329

6. *Палий А.Е., Палий И.Н., Федотова И.А., Мелкозерова Е.А., Цюпка С.Ю., Гребенникова О.А.* Динамика фенольных соединений в листьях маслины европейской в холодный период на южном берегу Крыма // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2019 – № 133. – С. 51-56. DOI: 10.36305/0513-1634-2019-133-51-56

7. *Паштецкая А. В., Бакова Н. Н.* Роль продуктов из листьев маслины (*Olea europaea* L.) в профилактике и лечении заболеваний: обзор // Чай в историческом, культурном и медицинском аспектах: Материалы III научно-теоретической конференции с международным участием. – Курск: Курский государственный медицинский университет. – 2022. – С. 360-379

8. *Чупахина Г.Н., Масленников П.В.* Методы анализа витаминов: Практикум. – Калининград: Изд-во КГУ. – 2004. – 36 с.

9. *Шлык А.А.* Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. В кн.: Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука. – 1971. – С. 154-170.

10. *Шолохова В.А.* Каталог перспективных сортов и форм маслины коллекции Государственного Никитского ботанического сада. – Ялта. – 1973. – 35 с.

11. *Шолохова В.А.*, *Черкасова К.Д.* Итоги сортоизучения маслины на Южном берегу Крыма / Итоги сортоизучения хурмы и маслины на Южном берегу Крыма // Труды Государственного Никитского ботанического сада. – Харьков. – 1970. – Т. XLVII. – 138 с.

12. *Esti M., Cinquanta L., La Notte E.* Phenolic compounds in different olive varieties // J. Agric.Food Chem. – 1998. – Vol. 46. – P. 32-35. DOI: 10.1007/s00217-002-0619-6.

13. *Feild T.S., Lee D.W., Holbrook N.M.* Why leaves turn red in autumn? The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood // Plant Physiology. – 2001. – Vol. 127, № 2. – P. 566-574

14. *Herrero M., Temirzoda TN., Segura-Carretero A., Quirantes R., Plaza M., Ibañez E.* New possibilities for the valorization of olive oil by-products // J Chromatogr A. – 2011. – Vol. 1218(42) – P. 7511-7520. – DOI: 10.1016/j.chroma.2011.04.053

15. *Japón-Luján R., Luque-Rodríguez J.M., Luque de Castro M.D.* Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves // J Chromatogr A. – 2006. –Vol. 1108. – P.76-82. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.12.106

16. *Kamran M., Hamlin A.S., Scott C.J., Obied H.K.* Drying at high temperature for a short time maximizes the recovery of olive leaf biophenols // Ind Crop Prod. – 2015. – Vol. 78. – P. 29-38. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.10.031

17. *Karthi N., Karthiga A., Kalaiyarasu Th., Stalin A., Manju V.* Exploration of cell cycle regulation and modulation of the DNA methylation mechanism of pelargonidin: Insights from the molecular modeling approach // Computational Biology and Chemistry. – 2017. – Vol. 70. – P. 175-185. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2017.08.002

18. Martinez L., Castillo J., Ros G., Nieto G. Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary, pomegranate and olive extracts in fish patties // Antioxidants. – 2019. – № 8. DOI: 10.3390/antiox8040086

19. *Martín-García B., Pimentel-Moral S., Gómez-Caravaca A.M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A.* Box-Behnken experimental design for a green extraction method of phenolic compounds from olive leaves // Ind Crop Prod. – 2020. – Vol. 154. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112741

20. *Silva S., Gomes L., Leitao F., Coelho A.V., Boas L.V.* Phenolic compounds and antioxidant activity of Olea europaea L. fruits and leaves // Food Science and Technology International. – 2006. – Vol. 12. – № 5. – P. 385-396. DOI: 10.1177/1082013206070166.

21. *Talhaoui N, Taamalli A, Maria Gomez-Caravaca A, Fernandez-Gutierrez A, Segura-Carretero A.* Phenolic compounds in olive leaves: analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits // Food Res Int. – 2015. – Vol. 77. – P. 92-108. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.09.011

22. *Wojcikowski K., Stevenson L., Leach D., Wohlmuth H., Gobe G.* Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat the urinary system: a comparison using a sequential three-solvent extraction process // J Altern Complement Med. – 2007. – Vol. 13(1). DOI: 10.1089/acm.2006.6122. PMID: 17309384

23. *Zhang C., Zhang J., Xin X., Zhu S., Niu E., Wu Q., Li T., Liu D.* Changes in Phytochemical Profiles and Biological Activity of Olive Leaves Treated by Two Drying Methods // Front. Nutr. – 2022. – Vol. 9. DOI: 10.3389/fnut.2022.854680

Статья поступила в редакцию 25.05.2023 г.

Belous O.G., Pashtetskaia A.V., Platonova N.B. Content of some biologically active substances in the leaves of *Olea europaea* L. // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2023. – № 147. – P. 49-55

Component composition of a number of biologically active substances in the leaves of *Olea europaea* L., growing on the basis of the Nikitsky Botanical Gardens was spectrophotometrically determined. The total content of polyphenols averages 538.94 mg/100 g dry weight. The main flavonoids of the leaves are anthocyanidins, flavanones (197.1 mg/100 g) and flavanols (299.7 mg/100 g). Of the anthocyanidins, pelargonidins (184.0 mg/100 g) and cyanidins (160.1 mg/100 g) are the most represented, the content of other anthocyanins is at the same level - an average of 18% of the total anthocyanins. The amount of photosynthetic pigments is 0.43 ± 0.02 mg/g (chlorophyll b), 1.32 ± 0.07 mg/g (chlorophyll a) and 0.40 ± 0.02 mg/g (total carotenoids). The content of anthocyanidins negatively correlates with the amount of chlorophylls and carotenoids. The analysis and identification of biologically active substances in the leaves of *Olea europaea* L. will continue, which will allow us to assess the pharmacological significance of this crop in the Southern Coast of the Crimea.

Key words: *Olea europaea* L.*; olive; leaves; biologically active substances; flavonoids; anthocyanins; carotenoids*