

Изучение накопления водорастворимых полисахаридов листьями подорожника большого, собранного в разных с экологической точки зрения районах города Воронежа и его окрестностей

Великанова Н. А., Гапонов С. П., Сливкин А. И.

Изучены особенности накопления водорастворимых полисахаридов листьями подорожника большого, собранного в различных с экологической точки зрения территориях города Воронежа и его окрестностей. Прослежена динамика накопления полисахаридов в листьях подорожника большого разных мест произрастания. Выявлена зависимость биосинтеза полисахаридов от загрязнения лекарственных растений тяжелыми металлами с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Ключевые слова: *подорожник большой, водорастворимые полисахариды.*

Studying of accumulation of water-soluble polysaccharides by leaves of a *Plantago major*, collected in districts different from the ecological point of view in the city of Voronezh and its suburbs

Features of water-soluble polysaccharides accumulation by the leaves of common plantain, collected in various environmental conditions of Voronezh-city and its suburbs were studied. A dynamics of accumulation of the polysaccharides in the leaves of common plantain in different places of growth was investigated. A dependence of polysaccharides biosynthesis on a pollution of the herbs with heavy metals was revealed using Spearman correlation coefficient.

Keywords: *plantagomajor, water-soluble polysaccharides.*

Введение

Растения являются неисчерпаемым источником сырья для получения лекарственных средств. Безопасность использования получаемых из лекарственного растительного сырья лекарственных средств напрямую связана с экологическим состоянием мест произрастания используемой флоры. В связи с этим изучение влияния антропогенного загрязнения на состав

данных лекарственных растений, в частности, в городе Воронеже и его окрестностях и выявление наиболее экологически неблагоприятных районов указанной территории, является актуальной задачей фармации.

Цель исследования — изучение содержания биологически активных веществ в растениях, собранных в разных с экологической точки зрения районах города Воронежа и его окрестностей. Были выбраны 10 мест сбора образцов почв и лекарственного растительного сырья, разнообразных в экологическом плане: химическое предприятие ООО «ГСИ-Гипрокаучук», теплоэлектроцентраль «ВогрЭС», Нововоронежская атомная электростанция, железнодорожные пути сообщения, аэропорт «Чертовицкое», трасса М4, улица города, линии электропередач, водоохранилище города и в качестве сравнения — заповедная зона (Воронежский биосферный заповедник). Растительный объект исследования — подорожник большой (*Plantago major*). Это наиболее характерный представитель как естественных растительных сообществ, так и урбанофлоры, обладающий рядом ценных свойств, и пользующийся высоким спросом у населения в качестве отхаркивающего, противовоспалительного, противовирусного, антимикробного средства. Наиболее значительной группой соединений в листьях подорожника большого являются водорастворимые полисахариды (до 25%), по содержанию которых определяют соответствие данного лекарственного растительного сырья установленным показателям качества.

Количественные определения полисахаридов в листьях подорожника большого проводили по собственной разработанной методике, отличающейся от предложенных ранее меньшей длительностью и количеством необходимого оборудования, простотой воспроизведения. Относительная ошибка метода составляет 2%.

Метод исследования

Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 1мм. Около 10 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 500 мл, прибавляли 200мл воды очищенной, нагретой до температуры кипения. Колбу помещали в ультразвуковую ванну с частотой 35 КГц, при температуре 80°C, экстрагировали 20 мин. Экстракцию повторяли еще 2 раза, прибавляя сначала 200 мл, а затем 100 мл воды.

Великанова Н. А., Гапонов С. П., Сливкин А. И. Изучение накопления водорастворимых полисахаридов листьями подорожника большого, собранного в разных с экологической точки зрения районах города Воронежа и его окрестностей // «Живые и биокосные системы». – 2013. – № 3; URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-3/article-16>

Водные извлечения объединяли и фильтровали в мерную колбу вместимостью 500 мл через 10 слоев марли, вложенной в стеклянную воронку диаметром 5 см и предварительно промытой водой очищенной. Фильтр промывали водой и доводили объём раствора до метки (раствор А).

25мл раствора А помещали в коническую колбу на 100 мл, прибавляли 75 мл 95% этилового спирта, перемешивали, подогревали на водяной бане до 30°C в течение 5 мин. Через 30 минут содержимое колбы фильтровали через предварительно высушенный и взвешенный беззольный бумажный фильтр, проложенный в стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом при остаточном давлении 0,4—0,8 атм. Осадок на фильтре последовательно промывали 15 мл раствора 95% этилового спирта в воде очищенной (3:1), 10 мл смеси этилацетата и 95% этилового спирта (1:1). Фильтр с осадком высушивали сначала на воздухе, затем при температуре 100—105°C до постоянной массы.

Содержание полисахаридов в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) * 200000}{m * (100 - W)}, \text{ где}$$

m_1 — масса высушенного фильтра, г;

m_2 — масса высушенного фильтра с осадком, г;

m — навеска сырья, г;

W — потеря в массе сырья при высушивании, %.

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице 1 приведены средние значения трех количественных определений содержания полисахаридов (доверительная вероятность (P) 0,95, коэффициент Стьюдента (t) 4,303).

Таблица 1 — Результаты количественного определения содержания полисахаридов в листьях подорожника большого

Место сбора листьев подорожника большого	Содержание полисахаридов, %
Заповедная зона	24,05±0,36
Вдоль железнодорожных путей	17,96±0,98
Улица города	17,60±0,83
Вдоль автомобильной трассы	12,34±0,93
Вблизи ТЭЦ	19,02±0,53
Аэропорт	13,35±0,97
Вблизи ООО «Воронежский Гипрокаучук»	19,22±0,99
Вблизи Нововоронежской АЭС	17,47±0,27
Вдоль водохранилища	21,35±0,43
Вдоль ВЛЭ	15,09±0,93

Нормативная документация устанавливает требование к количественному содержанию полисахаридов в листьях подорожника большого не менее 12 %. Полученные нами результаты показывают, что в отобранных образцах количество полисахаридов колеблется в диапазоне от 12,34% до 24,36%. Таким образом, по анализируемому показателю, все образцы листьев подорожника большого могут быть признаны удовлетворительными.

Максимальное количество действующих веществ накопилось в лекарственном растительном сырье, собранном в заповедной зоне, вдоль правого берега Воронежского водохранилища (более 20%). Минимальное количество полисахаридов в листьях подорожника большого обнаружено в образцах, произрастающих вдоль автомобильной трасс, вблизи аэропорта (менее 18%), то есть на территориях, подверженных сильному антропогенному воздействию, уже отмечаемому ранее. Однако, даже это сырье удовлетворяет требованиям нормативной документации. Поэтому рациональным, на наш взгляд, является изменить установленный ранее числовой показатель листьев подорожника большого «полисахаридов не менее 12%» на «полисахаридов не менее 18% в пересчете на абсолютно сухое сырье».

Образование и накопление в лекарственных растениях биологически активных веществ является динамическим процессом, зависящим от многочисленных факторов окружающей среды, в том числе антропогенных. Причина резкого различия в содержании водорастворимых полисахаридов в листьях подорожника большого, собранного в заповедной зоне и на территориях, испытывающих антропогенную нагрузку, кроется в негативном воздействии хозяйственной деятельности человека. Сильнейшими инги-

биторами фотосинтеза, благодаря которому происходит образование различных органических соединений, в том числе и биологически активных, являются тяжелые металлы. Проследить зависимость биосинтеза полисахаридов от загрязнения лекарственных растений тяжелыми металлами можно с помощью коэффициентранговой корреляции Спирмена. Результаты расчета коэффициента корреляции приведены в таблице 2.

Таблица 2 — Расчет коэффициентов ранговой корреляции (коэффициентов Спирмена) содержания тяжелых металлов и полисахаридов в листьях подорожника большого

Металл	Pb	Hg	Zn	Cu	Cr	Ni	Cd	Co	As
Коэффициент Спирмена для листьев подорожника большого	-0,38	-0,08	0,03	-0,18	-0,62	-0,55	-0,32	-0,43	-0,55

Анализ данных таблицы 2 показывает, что связь между содержанием тяжелых металлов и полисахаридов в листьях подорожника большого для восьми из девяти элементов отрицательная. Это говорит о том, что тяжелые металлы угнетают синтез полисахаридов: чем выше концентрация элементов-металлов в листьях подорожника большого, тем меньше в них образуется полисахаридов. Положительный коэффициент Спирмена наблюдается лишь для цинка, что объясняется высокой толерантностью большинства видов растений к избытку цинка в среде и его высокой биологической потребностью ввиду необходимости для функционирования ряда жизненно необходимых ферментов.

Невысокие, однако, отрицательные значения коэффициента корреляции получены для ртути. Этот коэффициент не дает возможности утверждать о подавлении синтеза полисахаридов ртутью и ее солями ввиду отмечаемого ранее крайне низкого содержания металла в лекарственном сырье подорожника большого.

Показатели высокой тесноты связи наблюдаются для хрома, чуть меньше для никеля и мышьяка. Коэффициенты ранговой корреляции для этих металлов позволяют сделать выводы о значительном влиянии их на биологическое угнетение синтеза полисахаридов подорожника большого. Полученные результаты объясняются высоким токсическим действием указанных элементов. Хром — один из наиболее фитотоксичных элементов. Повышенные

концентрации хрома снижают размеры листьев, задерживается их рост. При избытке никеля подавляются процессы фотосинтеза и транспирации, появляются признаки хлороза. Токсичность мышьяка по отношению к растениям также оценивают как сильную и связывают с его способностью конкурировать с жизненно важными элементами, например, с железом или фосфором.

Мы проследили динамику накопления полисахаридов в листьях подорожника большого разных мест произрастания, для чего выбрали три территории города Воронежа и его окрестностей, различные с экологической точки зрения: заповедная зона (экологически чистая территория с высокими показателями содержания полисахаридов в листьях подорожника большого), улица города (территория, подвергшаяся антропогенному воздействию, образцы с которой, по сравнению со всеми исследуемыми районами, имеют средние значения содержания полисахаридов), автомобильная трасса М4 (территория, подвергшаяся антропогенному воздействию, образцы с которой, по сравнению со всеми исследуемыми районами, имеют низкие значения содержания полисахаридов). Были проведены сборы листьев подорожника большого в 2012 году в различные фазы вегетации при среднем интервале отбора образцов один месяц.

Результаты определений количественного содержания полисахаридов и рассчитанные значения прироста содержания полисахаридов в последующий период по сравнению с предыдущим приведены в таблице 3.

Таблица 3 — Содержание полисахаридов (%) и прирост содержания полисахаридов (%) в различные фазы вегетации в листьях подорожника большого

Место сбора листьев подорожника большого	Фаза сбора	Содержание полисахаридов, %	Прирост содержания полисахаридов, %
Заповедная зона	бутонизация	18,98±0,65	
	начало цветения	23,40±0,56	0,23
	цветение	24,70±0,48	0,06
	плодоношение	24,29±0,93	-0,02
	Среднее	22,84	0,09
Улица города	бутонизация	16,27±1,02	

	начало цветения	17,93±0,59	0,10
	цветение	17,16±0,85	-0,04
	плодоношение	16,28±0,93	-0,05
	Среднее	16,91	0,00
Вдоль автомобильной трассы	бутонизация	12,18±0,78	
	начало цветения	13,49±0,92	0,11
	цветение	12,66±0,89	-0,06
	плодоношение	11,88±0,90	-0,06
	Среднее	12,55	-0,01

Динамика накопления полисахаридов в листьях подорожника большого, произрастающего в заповедной зоне и на территориях, испытывающих антропогенную нагрузку, отличается (таблица 3, рис. 1) Для сырья, собранного в заповедной зоне, наблюдается постепенное увеличение содержания полисахаридов от периода бутонизации до цветения, максимальное содержание полисахаридов наблюдается в период цветения (что полностью соответствует рекомендациям заготовки листьев подорожника большого), после чего происходит уменьшение концентрации полисахаридов. Для сырья, отбираемого с территорий, испытывающих антропогенную нагрузку, максимальное количество полисахаридов содержится в листьях в период начала цветения, после чего отмечается снижение концентрации действующего вещества. Аналогичные данные были нами получены при изучении динамики накопления флавоноидов травой горца птичьего. Объяснить их можно двумя причинами. Во-первых, в процессе вегетации происходит постепенное накопление тяжелых металлов, тормозящих биосинтетические процессы в растительном организме, а накопленные к тому моменту органические вещества используются растением на обеспечение собственных физиологических потребностей. Во-вторых, для растений, испытывающих антропогенную нагрузку, раньше, чем для сырья заповедной зоны, наблюдаются процессы увядания, также стимулируемые поллютантами среды.

Наиболее интенсивное снижение темпов прироста содержания полисахаридов в изучаемых образцах наблюдается для сырья, собранного вдоль автомобильной трассы, о чем свидетельствуют отрицательные значения среднего прироста концентрации. Кроме того, к фазе плодоношения эти листья перестают удовлетворять требованиям нормативной документации по численному содержанию действующих веществ.

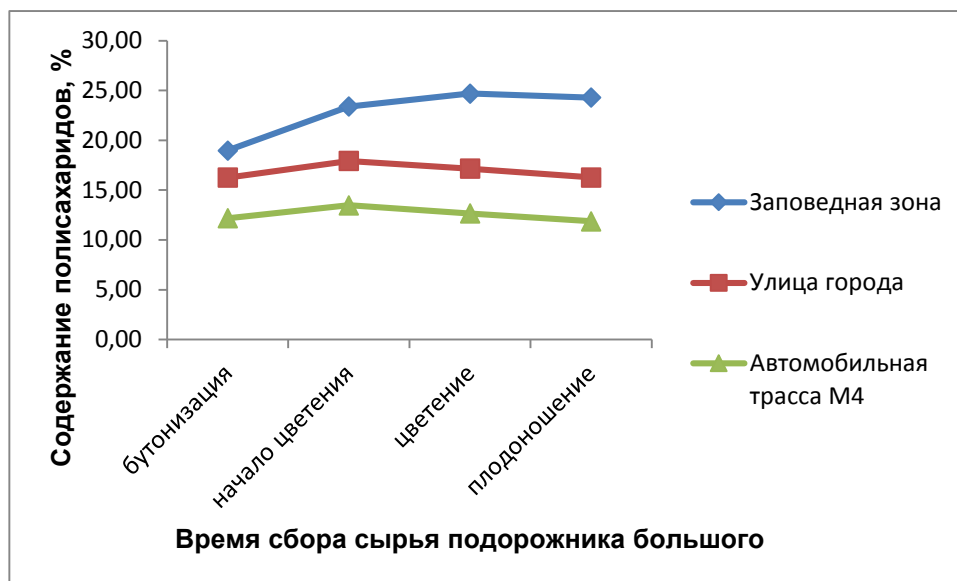


Рис. 1 — Динамика изменения содержания полисахаридов в листьях подорожника большого в разные фазы вегетации

Нами выявлена динамика изменений содержания полисахаридов в листьях подорожника большого, произрастающего на разных с экологической точки зрения территориях, в разные годы вегетации растения в период цветения, рекомендованный для заготовки этого вида лекарственного растительного сырья. Для анализа были выбраны три территории: заповедная зона, улица города, автомобильная трасса, — по причинам, указанным выше, и проанализировано изменение содержания действующих веществ в листьях подорожника в 2011—2012 годах.

Сводные данные о динамике годовых изменений содержания полисахаридов в листьях подорожника большого приведены в таблице 4.

Таблица 4 — Содержание полисахаридов (%) в различные года в листьях подорожника большого и годовые его изменения

Место сбора листьев подорожника большого	Год	Содержание полисахаридов, %	Годовые изменения, %
Заповедная зона	2011	24,05±0,36	2,69
	2012	24,70±0,48	
Улица города	2011	17,60±1,13	-2,51

	2012	17,16±0,85	
Вдоль автомобильной трассы	2011	12,34±1,03	2,57
	2012	12,66±0,89	

Анализ данных таблицы 4 показывает, что различия содержания полисахаридов в листьях подорожника большого в период цветения в 2011 и в 2012 годах отличаются мало. Для всех образцов годовые изменения не превышают 3%, хотя расчеты годовых изменений содержания тяжелых металлов показывали более значительные приросты концентраций в лекарственном растительном сырье токсичных элементов, особенно растений такого места сбора, как автомобильная трасса. Это указывает на экологическую приспособленность подорожника большого к антропогенному воздействию.

Список используемой литературы

1. Алексеев, Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю.В. Алексеев. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 170 с.
2. Бессонова В.П. Цитофизиологические эффекты воздействия тяжелых металлов на рост и развитие растений: Монография / Бессонова В.П. – Запорожье: ЗДУ, 1999. – 208 с.
3. Государственная Фармакопея СССР :Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд. – М. : Медицина, 1989. – 398 с.
4. Гуральчук, Ж.З. Эколого-физиологические аспекты действия повышенных концентраций цинка на растения / Ж.З. Гуральчук // Микроэлементы в биологии и их применение в сельском хозяйстве и медицине. Самарканд, 1990. – с.278–280
5. Ильин, В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение / В.Б. Ильин. – Новосибирск: Наука, 1991. – 151 с.
6. Лотош, В.Е. Экология природопользования / В.Е. Лотош //Екатеринбург: Полиграфист, 2001. – 540 с.
7. Пахарькова, Н.В. Оценка состояния древесных растений в условиях промышленного загрязнения воздуха / Н.В. Пахарькова, Г.А. Сорокина, Ю.С. Григорьев // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы экологии и развития городов». Красноярск, 2001. – Т. 1. – С. 116–120.