

ДОСЛІДЖЕННЯ МІНЕРАЛЬНОГО СКЛАДУ ТРАВИ ТИМОФІЇВКИ ЛУЧНОЇ

Ігор Бондаренко, Вікторія Кисличенко

Національний фармацевтичний університет
України

Вступ. Життя вищих рослин без мінеральних елементів неможливе. У рослинних тканинах концентрації цих сполук невеликі, часом мікроскопічні, але вони залучені до найрізноманітніших фізіологічних та біохімічних процесів: побудови клітинних і тканинних структур рослин, роботи ферментів та електрон-транспортних ланцюгів, трансдукції гормональних сигналів та функціонування генетичного апарату. Вищі рослини - первинне харчове джерело мінеральних сполук для багатьох живих істот. Невипадково їх надлишок або надвелика концентрація у рослинних тканинах шкідлива як для рослин, так і для споживачих їх організмів. Для нормальної життєдіяльності людини необхідно щонайменше 50 видів різних поживних речовин (12 вітамінів, 8 амінокислот, 17 – мінеральних елементів тощо) [12]. Понад трьох мільярдів людей (майже половина населення планети) схильні до захворювань, які виникають внаслідок споживання продуктів харчування, збагачених мінеральними елементами. Особливо подібні захворювання поширені в країнах, де традиційною є злакова дієта. Однак, все більша частина людства піклується про якість споживаної їжі, звертаючи увагу як на харчову цінність, так і на вміст у харчових продуктах макро- і мікроелементів. Для людини, як споживача рослинної сировини, величезне значення має здатність рослин накопичувати окремі елементи, а також можливість їхнього кількісного переходу безпосередньо до продукту. Встановлено, що перехід елементів із рослинної сировини у водні форми – відвари або настої – складає 8–28 %. При цьому має значення ступінь подрібнення сировини та властивості самих елементів. Елементи впливають на активність багатьох ферментів, входять до складу вітамінів, гормонів і тим самим підтримують гомеостаз організму. Їх вивчення з середини минулого століття стало предметом численних наукових досліджень. Встановлено, що існує взаємозв'язок між накопиченням у рослинах певних класів фенольних сполук та вмістом у них окремих елементів (Fe, Mn, Cu, Co тощо) [2, 3, 6, 10, 14, 17]. Набагато менше публікується даних про особливості розподілу мінеральних сполук між органами рослин [1, 2]. Ряд науковців вказує на внесок у сумарний фармакологічний ефект мінерального складу рослин, що впливає на можливість та ймовірну доцільність застосування рослинних препаратів для лікування поширених у сучасному світі елементозів [4, 5, 9, 12, 16].

Тому перспективним є пошук нових рослинних джерел, які можна використовувати у лікувально-профілактичній терапії станів, викликаних

дефіцитом мінеральних елементів. Одним із можливих способів вирішення цієї проблеми є біофортифікація, при якій вирощують сільськогосподарські культури, що містять необхідні мінеральні елементи, які підвищують їхню харчову цінність для людини. Для цього особливе значення має максимально повне дослідження мінерального складу цих рослин, у тому числі й токсичних елементів (Al, As, Cd, Hg, Pb, Sn, Sr), накопичення яких, як правило, визначається екологічними факторами довкілля. Однак, деякі важкі метали одночасно є необхідними поживними елементами та без їх присутності у навколишньому середовищі рослини не можуть функціонувати та завершувати свій розвиток. Залежно від концентрації деякі елементи можуть бути мікроелементами, що стимулюють розвиток рослини, а можуть бути «важкими металами», «забруднювачами», що гальмують фізіологічні процеси в рослині, погіршують якість рослинної сировини та її екологічну безпечність [8, 11, 18].

Мета дослідження – отримання інформації про кількісний вміст та якісний склад макро- та мікроелементів у траві тимофіївки лучної для створення ефективних та безпечних лікарських засобів на її основі.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували траву тимофіївки лучної, заготовлену у серпні 2022 року в Харківській області (Україна). Сировину сушили у затінку на відкритому повітрі, періодично перемішуючи, та подрібнювали.

Дослідження мінерального складу проводили на базі ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України (м. Харків) у відділі аналітичної хімії ім. А. Б. Бланка під керівництвом мол. н. сп. О.В. Гришиної. Випробовування проводили з використанням атомно-абсорбційного спектрографічного методу з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'я згідно до ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття 2.2.23 «Атомно-абсорбційна спектрометрія» [15].

2,0 г висушеної рослинної сировини (точна наважка) подрібнювали до порошкоподібного стану. Вносили у кварцовий тигель, додавали 10 мл 5 % розчину кислоти сірчаної, висушували ($t = 105\text{ }^{\circ}\text{C}$) до постійної маси. Тиглі вносили до муфельної печі на 5 год ($t = 500\text{ }^{\circ}\text{C}$), охолоджували, зважували. Розчиняли у 5% кислоті сірчаній, вносили у кювети до електротермічного атомізатора приладу. Атомізацію проб здійснювали на графітових електродах пристрою ІВС-28 у розряді дуги змінного струму ($I = 16\text{ A}$, $U = 220\text{ V}$, $t = 60\text{ c}$, $P = 0,04\text{ МПа}$, $t_{\text{полум'я}} = 2250\text{ }^{\circ}\text{C}$). Спектри реєстрували за допомогою спектрографа ДФС-8 (дифракційна решітка 600 шт/мм при трилінзовій системі освітлювання щілини). Інтенсивність емісійних ліній у спектрах фіксували мікрофотометром МФ-1 (фаза підпалювання $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, ширина щілини спектрографа $0,015\text{ мм}$, $\lambda = 196\text{--}706,5\text{ нм}$). Для ідентифікації та кількісного визначення елементного складу досліджуваної рослинної

сировини використовували відповідні смуги поглинання за стандартними зразками (нм): 213,9 (Zn); 228,8 (Cd); 232,0 (Ni); 240,7 (Co); 248,3 (Fe); 251,6 (Si); 257,0 (Hg); 279,5 (Mn); 283,3 (Pb); 285,2 (Mg); 309,3 (Al); 313,3 (Mo); 324,7 (Cu); 357,9 (P); 365,0 (As); 422,6 (Ca); 460,0 (Sr); 589,0 (Na); 706,5 (K).

Фотопластинки проявляли, висушували, фотометрували лінії (у нм) спектрів проб, градуювальних зразків, а також фон біля них. Потім будували калібрувальний графік у координатах: середнє значення різниці почорніння лінії та фону – логарифм вмісту елемента в градуювальних зразках, за яким знаходили відсотковий вміст елемента в золі та розраховували його кількісний вміст у досліджуваній сировині за формулою:

$$X = a \cdot m_1 / m,$$

де m_1 – маса золи, г; m – маса сировини, г; a – вміст елемента в золі, % [1, 7, 13].

Визначення вмісту золи загальної проводили за методикою ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття 2.4.16 «Загальна зола» [15].

Результати опрацювали методом математичної статистики відповідно до вимог ДФУ 2.0, т. 1 (загальні статті 5.3 «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та кількісних визначень» та 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N») за допомогою програми Statistica 8 (StatSoft inc., США) та пакета статистичних функцій програми Microsoft Excel [15]. Вірогідність відмінностей величин концентрацій оцінювали за t -критерієм Стьюдента ($p > 95\%$) [15].

Результати й обговорення

Методом атомно-абсорбційного спектрографії у траві тимофіївки лучної встановили присутність 19 мінеральних елементів, із яких 10 (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Zn, Co, P, Mo) є есенціальними. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Вміст мінеральних елементів у траві тимофіївки лучної, мг/100 г ($x \pm \Delta x$), $n = 5$

Назва елемента	λ , нм	Вміст елемента, мг/100 г
Цинк (Zn)	213,9	15,60 ± 1,55
Кадмій (Cd)	228,8	< 0,01
Нікель (Ni)	232,0	0,31 ± 0,04
Кобальт (Co)	240,7	<0,03
Ферум (Fe)	248,3	39,00 ± 4,33
Силіцій (Si)	251,6	1500,00 ± 110,70
Меркурій (Hg)	257,0	<0,01
Манган (Mn)	279,5	7,00 ± 0,82
Магній (Mg)	285,2	470,00 ± 43,41
Плюмбум (Pb)	283,3	0,18 ± 0,03
Алюміній (Al)	309,3	110,00 ± 10,18
Молібден (Mo)	313,3	0,23 ± 0,03
Купрум (Cu)	324,7	2,30 ± 0,29
Фосфор (P)	357,9	390,00 ± 35,80
Арсен (As)	365,0	<0,01
Кальцій (Ca)	422,6	1170,00 ± 124,80
Стронцій (Sr)	460,0	6,80 ± 1,02
Натрій (Na)	589,0	340,00 ± 30,60
Калій (K)	706,5	4600,00 ± 410,60
Вміст золи, %		15,57 ± 0,76

Серед ідентифікованих сполук 6 віднесено до макроелементів (K, Ca, Mg, Na, Si, P), 9 – до мікроелементів (Fe, Al, Mn, Pb, Ni, Mo, Cu, Zn, Sr) та 4 – ультрамікроелементів (Co, Cd, As, Hg). Загальний вміст макро- та мікроелементів становив 8651,42 мг/100 г. Вміст мінеральних елементів у траві тимофіївки лучної поступово спадав у ряду $K > Si > Ca > Mg > P > Na > Al > Fe > Zn > Mn > Sr > Cu > Ni > Mo > Pb$.

Вміст макроелементів у досліджуваній сировині дорівнював 8470,00 мг/100 г. У переважних концентраціях накопичувались (мг/100 г): K (4600,00 ± 410,60), Si (1500,00 ± 110,70) та Ca (1170,00 ± 124,80).

Загальний вміст мікроелементів становив 181,42 мг/100 г. Серед мікроелементів превалювали (мг/100 г): Al (110,00 ± 10,18) та Fe (39,00 ± 4,33).

Наявність того чи іншого елемента у рослині забезпечує її нормальний розвиток, зокрема, K активує понад 60 ферментів, сприяє гідратації протоплазми, відіграє роль у транспортуванні іонів, водному обміні та осморегуляції, Fe бере участь у функціонуванні основних редокс-систем фотосинтезу та дихання, входить до складу цитохромів, каталази, металопіанінових комплексів, Si сприяє підвищенню механічної міцності листя та стійкості рослин до грибкових захворювань і несприятливих умов вирощування, Ca відповідає за скріплення клітинних

стінок рослин, має вирішальне значення для активації деяких ферментів та посилення сигналів, що координують певні клітинні процеси, Al входить до складу тканин та міжклітинних розчинів, контролюючи їх колоїдні властивості [12].

В результаті проведеного аналізу встановлено, що вміст золи у траві тимофіївки лучної дорівнює $15,57 \pm 0,76$ %.

Особливий інтерес для харчування людини представляє співвідношення Na/K, враховуючи зв'язок продуктів з низьким Na/K зі зниженням проявів гіпертонії та зупинки серця [4, 5]. Для трав тимофіївки лучної це співвідношення становило 0,074, що є важливим для підтримки збалансованої кислотно-лужної рівноваги та осмотичного тиску рідини організму людини. Співвідношення Ca/Mg дорівнює 2,49, тому для зниження ризику розвитку серцево-судинних захворювань та атеросклерозу, підтримки нормальної роботи м'язів, кісток та нервової системи можна рекомендувати лікарські засоби на основі трав тимофіївки лучної [5].

Допустимий вміст важких металів, які, потрапляючи до організму, здатні залишатися і накопичуватися, а досягнувши певної концентрації – чинити згубний вплив, викликаючи отруєння і мутації, у лікарській сировині згідно з вимогами ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття 2.4.27 «Важкі метали у лікарській рослинній сировині та лікарських рослинних засобах», становить для Zn – 30 мг/кг, Cr – 1,5, Cu – 10, Ni – 1,5, Mn – 200, Cd – 0,30, Pb – 10, As – 1,0 [15]. В результаті дослідження встановлено, що вміст таких елементів як кобальт (Co), кадмій (Cd), ртуть (Hg), арсен (As) виявлений в межах можливостей та дорівнює: Co < 0,03 мг/100г; Cd, As, Hg < 0,01 мг/100г. Тобто, важкі токсичні метали знаходяться у допустимих межах для лікарської сировини, які встановлені ДФУ [15].

Висновки

Вперше методом атомно-абсорбційної спектроскопії у траві тимофіївки лучної ідентифікували та встановили кількісний вміст 19 мінеральних сполук. Домінуючими є калій, силіцій, кальцій, алюміній та ферум. Важкі метали ідентифіковані у дозволених межах, тому трава тимофіївки є досить безпечною для застосування. Одержані дані дозволяють відмітити, що трава тимофіївки лучної містить значні кількості багатьох важливих мінеральних сполук, у першу чергу – есенціальних. У комплексі з іншими біологічно активними речовинами (полісахаридами, фенольними сполуками, органічними кислотами) це підкреслює терапевтичну значимість та дає змогу створення нових препаратів комбінованої дії на основі досліджуваної рослинної сировини.

Study of Timothy herb mineral composition

Igor Bondarenko, Viktoriya Kyslychenko

Introduction. Higher plants are the primary food source of mineral compounds for many living creatures. At least 50 types of different nutrients (12 vitamins, 8 amino acids, 17 mineral elements, etc.) are necessary for normal

human activity. For a person, as a consumer of plant raw material, the ability of plants to accumulate individual elements, as well as the possibility of their quantitative transition directly to the product, is of great importance. It was determined that the transition of elements from plant raw material into aqueous forms (either decoctions or infusions) is 8-28%. The elements affect the activity of many enzymes, are part of vitamins, hormones and thereby support the homeostasis of the body. Their study has been the subject of numerous scientific researches since the middle of the last century. Therefore, it is promising to search for new plant sources that can be used in the treatment and prevention of conditions caused by a deficiency of mineral elements. The **aim** of the work was to obtain information on the quantitative content and qualitative composition of macro- and microelements in the timothy herb in order to create effective and safe medicines on its basis. **Materials and methods.** Timothy herb harvested in August 2022 in the Kharkiv region (Ukraine) was used for the study. The mineral composition analysis was carried out on the basis of the State Scientific Institution "Institute for Single Crystals" of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv). The tests were done using the atomic absorption spectrographic technique with atomization in an air-acetylene flame according to the State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0, vol. 1. Samples atomization was performed on graphite electrodes of the IBC-28 device in an alternating current arc discharge ($I = 16$ A, $U = 220$ V, $t = 60$ sec, $P = 0.04$ MPa, $t_{\text{flame}} = 2250$ °C). Spectra were recorded using a DFS-8 spectrograph (diffraction grating 600 pcs/mm with a three-lens slit illumination system). The emission lines intensity in the spectra was recorded with a MF-1 microphotometer (ignition phase 60 °C, spectrograph slit width 0.015 mm, $\lambda = 196\text{--}706.5$ nm). For identification and quantitative determination of the elemental composition of the studied plant material, the corresponding absorption bands according to standard samples were used (nm): 213.9 (Zn); 228.8 (Cd); 232.0 (Ni); 240.7 (Co); 248.3 (Fe); 251.6 (Si); 257.0 (Hg); 279.5 (Mn); 283.3 (Pb); 285.2 (Mg); 309.3 (Al); 313.3 (Mo); 324.7 (Cu); 357.9 (P); 365.0 (As); 422.6 (Ca); 460.0 (Sr); 589.0 (Na); 706.5 (K). Photographic plates were developed, dried, photometered lines (in nm) of the spectra of samples, calibration samples, as well as the background near them. Then a calibration graph was constructed in coordinates: the average value of the difference between the blackening of the line and the background is the logarithm of the element content in the calibration samples, by which the percentage content of the element in the ash was found and its quantitative content in the studied plant raw material (mg/100 g) was calculated. The determination of total ash content was carried out according to the protocol described in the State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0, vol. 1, general article 2.4.16 "Total ash". Statistica 8 software (StatSoft inc., USA) and the package of statistical functions of the Microsoft Excel were used for the obtained results data analysis. **Results and discussion.** The quantitative content of 19 mineral

compounds was identified and determined in timothy herb by atomic absorption spectrometry technique. 10 of the identified mineral compounds (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Zn, Co, P, Mo) are essential. Macroelements (mg/100 g) such as K (4600.00 ± 410.60), Si (1500.00 ± 110.70), Ca (1170.00 ± 124.80), as well as microelements such as Al (110.00 ± 10.18) and Fe (39.00 ± 4.33) were accumulated in predominant concentrations. The total content of mineral compounds was 8651.42 mg/100 g, of which macroelements – 8470.00 mg/100 g, microelements – 181.42 mg/100 g. The mineral elements content in timothy herb gradually decreased in the series $K > Si > Ca > Mg > P > Na > Al > Fe > Zn > Mn > Sr > Cu > Ni > Mo > Pb$. Accumulation of toxic heavy elements (Cd, Co, Hg, Pb, As,) for the studied plant material was $<0.01-0.03$ mg/100 g, which is within the permissible norms for medicinal plant raw materials, established by the State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0, vol. 1. As a result of the analysis, it was determined that the ash content in timothy herb equaled $15.57 \pm 0.76\%$. **Conclusions.** For the first time, the quantitative content of 19 mineral compounds was identified and quantified in timothy herb by atomic absorption spectrometry. Potassium, silicon, calcium, aluminum and ferrum are dominant. Heavy metals are identified within permissible limits, so timothy herb is quite safe for use. The obtained data allow us to note that timothy herb contains significant amounts of many important mineral compounds, primarily essential ones. In a complex with other biologically active substances (polysaccharides, phenolic compounds, organic acids), this emphasizes the therapeutic significance and enables the creation of new drugs of combined action based on the investigated plant raw material.

Keywords: timothy, *Phleum pratense* L., mineral compounds, atomic absorption spectrometry, identification, quantitative content.

References

1. Balanchuk TI, Mazulin AV, Oproshanska TV, Mazulin GV. The investigation of inorganic elements composition in *Carduus nutans* L. and *Carduus acanthoides* L. flores and leaves. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2017. 10 (1). 42–48.
2. Bayandina II, Zagurskaya YuV. The relationship of secondary metabolism and chemical elements in medicinal plants. *Siberian Medical Journal*. 2014. 131 (8). 107-111.
3. Boyarskikh IG, Syso AI, Siromlya TI. Variability of the content of chemical elements and biologically active polyphenols in the organs of *Lonicera caerulea* subsp. *altaica* (Caprifoliaceae) in an altitudinal gradient. *Siberian Ecological Journal*. 2019. 6. 727–741.
4. Choi MK, Lee WY, Park JD. Relation among mineral (Ca, P, Fe, Na, K, Zn) intakes, blood pressure, and blood lipids in Korean adults. *Korean J. Nutr*. 2005. 38. 827–835
5. Derecha LM, Miasoiedov VV. Macro- and microelements: current understanding of their functional significance in the body of warm-blooded. *Experimental and clinical medicine*. 2007. 4. 21–25.
6. Grazul M, Budzisz E. Biological activity of metal ions complexes of chromones, coumarins and flavones. *Coordination Chemistry Reviews*. 2009. 253(21-22). 2588-2598.
7. Iosypenko OO, Kyslychenko VS, Omelchenko ZI. Mineral composition of vegetable marrows leaves. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2019. 2(30). 148–152.
8. Kumar SR, Madhoolika A. Biological effects of heavy metals: An overview. *Journal of Environmental Biology*. 2005. 26(2). 301-313.
9. Lovkova MJa, Buzuk GN, Sokolova SM, Derevjago LN. On the possibility of the use of medicinal plants for the treatment and prevention of pathological conditions and mikroelementenites. *Microelements in medicine*. 2005. 6(4). 3-10.
10. Lovkova MJa, Sokolova SM, Buzuk GN, Bykhovskii VIa, Ponomarev SM. Features of the Elemental Composition of Medicinal Plants, synthesizing Phenolic Compounds. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 1999. 35(5). 578-589.
11. Oves M, Saghir Khan M, Huda Q. A Heavy metals: biological importance and detoxification strategies. *Journal of Bioremediation & Biodegradation* 2016. 7(2). 1-15.
12. Pogorelov MV, Bumeister VI, Tkach GF et al. Macro- and microelements (exchange, pathology and methods of determination): monograph. Sumy: Publishing House of Sumy State University, 2010. 147.
13. Protska V. The study of mineral elements of the herb of *Aerva lanata* (Linn.) Juss. ex Schult. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. 3. 42-46.
14. Skórzynska-Polit E, Drakiewicz M, Wianowska D, Maksymiec W, Dawidowicz AL, Tukiendorf A. The influence of heavy metal stress on the level of some flavonols in the primary leaves of *Phaseolus coccineus*. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2004. 26(3). 247-254.
15. State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes / SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for Quality of Medicinal Products". 2nd ed. Kharkiv: SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for Quality of Medicines". 2015. 1. 1130 p.
16. Suksomboon N, Poolsup N, Yuwanakorn A. Trace elements and metals. *LiverTox*. 2019. 4. 1-9.
17. Szymański M, Witkowska-Banaszczak E, Klak N, Marciniak K, Wołowicz T, Szymański A. Effects of trace elements on polyphenolic compounds in *Millefolii herba*. *Pol. J. Environ. Stud*. 2014. 23(2). 459–466.
18. Zheljzakov VD, Nielsen NE. Effect of heavy metals on peppermint and cornmint. *Plant and Soil*. 1996. 178. 59-66.