

Vol. 34, № 3. – P. 308–313. 11. Goldstein S. A. Anatomic and aesthetic considerations in midfacial rejuvenation / S. A. Goldstein, S. M. Goldstein // *Facial Plast. Surg.* – 2006. – Vol. 22, № 2. – P. 105–111. 12. Ho T. Preoperative assessment of the aging patient / T. Ho, A. E. Brissett // *Facial Plast. Surg.* – 2006. – Vol. 22, № 2. – P. 85–90. 13. Kaya G. Dermatoporosis: a chronic cutaneous insufficiency/fragility syndrome. Clinicopathological features, mechanisms, prevention and potential treatments / G. Kaya, J. H. Saurat // *Dermatology.* – 2007. – Vol. 215, № 4. – P. 284–294. 14. Lautenschlager S. Photoprotection / S. Lautenschlager, H. C. Wulf, M. R. Pittelkow // *Lancet.* – 2007. – Vol. 370, № 9586. – P. 528–537. 15. Lupo M. P. Cosmeceutical peptides / M. P. Lupo, A. L. Cole // *Dermatol. Ther.* – 2007. – Vol. 20, № 5. – P. 343–349. 16. Makrantonaki E. Molecular mechanisms of skin aging: state of the art / E. Makrantonaki, C. C. Zouboulis // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 1119. – P. 40–50. 17. Makrantonaki E. The skin as a mirror of the aging process in the human organism – state of the art and results of the aging research in the German National Genome Research Network 2 (NGFN-2) / E. Makrantonaki, C. C. Zouboulis // *Exp. Gerontol.* – 2007. – Vol. 42, № 9. – P. 879–886. 18. Rapid picture presentation and affective engagement / J. C. Smith,

A. Low, M. M. Bradley, P. J. Lang // *Emotion.* – 2006. – Vol. 6, № 2. – P. 208–214. 19. Receptors in skin ageing and antiageing agents / I. Ghersech, M. Troiano, V. De Giorgi, T. Lotti // *Dermatol. Clin.* – 2007. – Vol. 25, № 4. – P. 655–662. 20. Serra-Renom J. M. Inferiorly pedicled tongue-shaped SMAS flap transposed to the mastoid to improve the nasolabial fold and jowls and enhance neck contouring during face-lift surgery / J. M. Serra-Renom, J. M. Dieguez, T. Yoon // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2008. – Vol. 121, № 1. – P. 298–304. 21. Sexual hormones in human skin / C. C. Zouboulis, W. C. Chen, M. J. Thornton [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 2007. – Vol. 39, № 2. – P. 85–95. 22. Structural characteristics of the aging skin: a review / M. A. Farage, K. W. Miller, P. Elsner, H. I. Maibach // *Cutan. Ocul. Toxicol.* – 2007. – Vol. 26, № 4. – P. 343–357. 23. Weinkle S. Facial assessments: identifying the suitable pathway to facial rejuvenation / S. Weinkle // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2006. – Vol. 20, Suppl. 1. – P. 7–11. 24. Wondrak G. T. Let the sun shine in: mechanisms and potential for therapeutics in skin photodamage / G. T. Wondrak // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* – 2007. – Vol. 8, № 5. – P. 390–400.

Надійшла до редколегії 02.01.13

УДК 615.451.1:663.88

О. Ситар, канд. біол. наук, Н. Таран, д-р біол. наук

АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ТА ВМІСТ АНТОЦΙΑНІВ У РОСЛИН ГРЕЧКИ ТА ЛЬОНУ В УМОВАХ КУЛЬТУРИ *IN VITRO*

В умовах *in vitro* було досліджено антиоксидантну активність та вміст антоціанів у проростках гречки та льону. В екстрактах листків гречки в умовах культури *in vitro* була продемонстрована висока антиоксидантна активність (78%). Антиоксидантна активність у проростках льону була нижчою чим у проростків гречки, які були вирощені як за умов *in vivo*, так і *in vitro*. Вміст антоціанів у проростках гречки та льону, вирощених за умов культури *in vitro* був нижчий порівняно з рослинами, що були вирощені за умов *in vivo*. Поряд з цим стебла як гречки, так і льону характеризуються високим вмістом антоціанів, як за умов *in vivo*, так *in vitro*. Було продемонстровано залежність між антиоксидантною активністю та вмістом антоціанів у екстрактах проростків гречки та льону, що були вирощені, як за умов *in vivo*, так і *in vitro*.

Ключові слова: антиоксидантна активність, антоціани, умови *in vitro*, *in vivo*.

В условиях *in vitro* было исследовано антиоксидантную активность и содержание антоцианов в проростках гречихи и льна. В экстрактах листьев гречихи в условиях культуры *in vitro* была продемонстрирована высокая антиоксидантная активность (78%). Антиоксидантная активность в проростках льна была ниже чем у проростков гречихи, которые были выращены как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*. Содержание антоцианов у проростков гречихи и льна, выращенных в условиях культуры *in vitro* было ниже по сравнению с растениями, выращенных в условиях *in vivo*. Наряду с этим стебли как гречихи, так и льна характеризуются высоким содержанием антоцианов, как в условиях *in vivo*, так *in vitro*. Было продемонстрировано зависимость между антиоксидантной активностью и содержанием антоцианов в экстрактах проростков гречихи и льна, выращенных, как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, антоцианы, условия *in vitro*, *in vivo*.

The antioxidant activity and anthocyanins content from extracts of seedlings of buckwheat and flax plants which were grown under conditions *in vitro* has been studied. The high antioxidant activity (78%) in the extracts of buckwheat leaves *in vitro* culture has been observed. Antioxidant activity in the extracts of flax seedlings was lower than in the extracts of buckwheat seedlings, which were grown under both conditions as *in vivo*, and *in vitro*. The anthocyanins content in the seedlings of buckwheat and flax which were grown under *in vitro* conditions was lower compared with extracts from buckwheat and flax seedlings that were grown under conditions *in vivo*. At the same time the extracts from stems of buckwheat and flax characterized by a high content of anthocyanins at the both growth conditions – *in vivo* and *in vitro*. The correlation between antioxidant activity and anthocyanins content in investigated extracts of seedlings of buckwheat and flax has been observed.

Keywords: antioxidant activity, anthocyanins, conditions *in vitro*, *in vivo*.

Вступ. Рослини виду льон на сьогодні широко використовуються в біотехнології, що часто включає в себе біохімічні та лабораторні методи досліджень регенерації рослин. В культурі *in vitro* дослідження регенерації льону проводились протягом багатьох років в різних лабораторіях з використанням різних типів експлантів для ефектної регенерації даного виду рослин [10]. Техніка регенерації у культурі *in vitro* ведеться також для отримання трансгенних рослин з певними сприятливими змінами їх функціональності. Такі зміни можуть бути ефективно введені в різний вид рослин за допомогою генної інженерії. Згадані вище зміни стосуються як особливостей якості волокна так і біохімічного складу насіння льону [5].

Але на сьогодні основний акцент для вивчення біохімічного складу рослин та для дослідження можливостей регуляції продукції певних важливих вторинних метаболітів є в маніпуляціях з середовищами культур *in vitro* для певних видів рослин. Зокрема, маніпуляції з середовищами культур *in vitro* повинні бути ефективними для зростання продуктивності та накопичення певних біохімічних сполук [10]. Шляхи експресії синтезу багатьох вторинних метаболітів легко змінюються в залежності від зовнішніх факторів, таких як рівень поживних речовин, стресові чинники, світло та регулятори росту. Багато компонентів, що використовуються для

середовищ при культивуванні рослин в культурі *in vitro* є важливими чинниками підвищення продукції та накопичення вторинних метаболітів [6]. Зокрема, умови навколишнього середовища, такі як світло [2], температура, pH середовища та кисень впливають на накопичення вторинних метаболітів у багатьох типах культур [10]. Рослини льону на сьогодні використовувались для досліджень в культурі *in vitro* в основному для вивчення регенераційних процесів, але біохімічні параметри даних рослин не я вивченими достатньо. Поряд з рослинами льону для досліджень можливості регулювання продукцією певних вторинних метаболітів в культурі *in vitro* почали використовувати рослини гречки [4].

Метою роботи було дослідити антиоксидантну активність та вміст антоціанів, як сполук антиоксидантної природи, у проростків рослин льону та гречки вирощених за умов культури *in vitro*.

Матеріали та методи. За природних умов (*in vivo*, контроль) насіння гречки та льону проростало в оранжерейі протягом 14 днів за умов 14/8 фотоперіодом при температурі 18 °C та 65% вологості. Насіння гречки звичайної та льону посівного було стерилізовано шляхом промивки поверхні в проточній воді з милом протягом 20 хвилин за асептичних умов при ламінарному потоці повітря в камері з промиванням 70% етанолом протягом

1 хвилини і замочуванням на 20 хвилин в 10% розчині гіпохлориту натрію. Після замочування насіння промивали три рази в стерильній дистильованій воді. П'ять насінин базально розміщували на агарному поживному середовищі Мурасіге та Скуге (МС) [8] в чашках Петрі (100 x 15 мм). Середовище МС з сахарозою (30 г/л) та агаром (8 г/л) з рН 5,8 стерелізували в автоклаві при 121 °С протягом 25 хв. Насіння проростало в ростовій камері за стандартних умов при дії люмінесцентної лампи з потоком частинок розміром 35 мкмоль с⁻¹м⁻² та 16/8 годинним фотоперіодом та при температурі 25°С. Після 14 днів росту та культивування рослинний матеріал було використано для біохімічного аналізу. Біологічна повторність експерименту шестикратна. Для визначення антиоксидантної активності ми використовували метод визначення антиоксидантної активності розроблений Моліна [7]. Для визначення антоціанів використовували наважку з 0,5 г листя з 10 мл суміші n-пропанолу: HCl: H₂O (18:1:81). Зразки нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв, а потім вони інкубувались протягом 24 год у темряві при 4 °С. Екстракти фільтрували і далі міряли

при довжинах хвиль 535 та 650 нм. Вміст антоціанів розраховували по формулі [3, 9] та виражали у вигляді A₅₃₅ на г сухої речовини: $A_{535} = A_{535} - 0,22 \cdot A_{650}$.

Результати та їх обговорення. Результатами попередніх досліджень було продемонстровано, що рослини гречки мають більш високий вміст загальних фенолів та антиоксидантну активність порівняно з рослинами амаранта, пшениці та лебеди і антиоксиданта активність пов'язана з вмістом загальних фенолів [1].

Тест на антиоксидантну активність показав вищу антиоксидантну активність на 28% та 140% в листках проростків гречки як за умов *in vivo* так і *in vitro* порівняно зі стеблами. В той же час антиоксидантна активність за умов *in vitro* у рослин гречки була нижче, чим у проростках гречки, що були вирощені за умов *in vivo*. За умов *in vivo* у стеблах антиоксидантна активність була вищою на 44% по відношенню до стебел проростків, що росли за умов *in vitro* (рис. 2). Попередніми дослідженнями було показано чіткий зв'язок між антиоксидантною активністю та вмістом загальних фенолів у рослинах гречки [4].

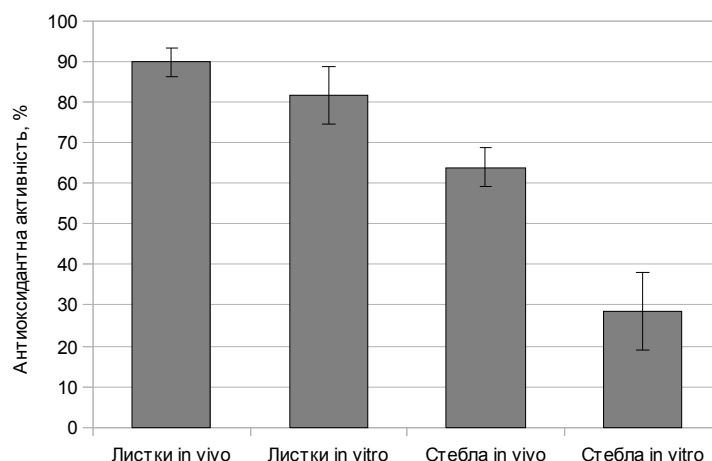


Рис. 1. Антиоксидантна активність в проростках гречки вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Відомо, що насіння льону є багатющим джерелом поліненасичених кислот та інших сполук антиоксидантної природи та їх споживання може бути корисним для здоров'я людини [13]. Насіння льону (*Linum usitatissimum*) має дуже високу антиоксидантну активність і було запропоноване як важливе джерело для видобутку нафти та антиоксидантів. Основні сполуки, що відповідають за антиоксидантну активність насіння льону це аскорбінова кислоти, яка є найбільш поширеним антиоксидантом в насінні льону [11]. Проте досліджень стосовно рівня ан-

тиоксидантної активності в проростках льону не було виявлено і ми спробували визначити антиоксидантну активність в листках та стеблах проростків льону, вирощених за умов різних умов вирощування. Для листків і стебел проростків льону було виявлено, що антиоксидантна активність за умов *in vitro* у рослин льону була нижче, чим у проростках льону, що були вирощені за умов *in vivo* (Рис.2). Також антиоксидантна активність у проростках льону була нижчою чим у проростках гречки, які були вирощені як за умов *in vivo*, так і *in vitro*.

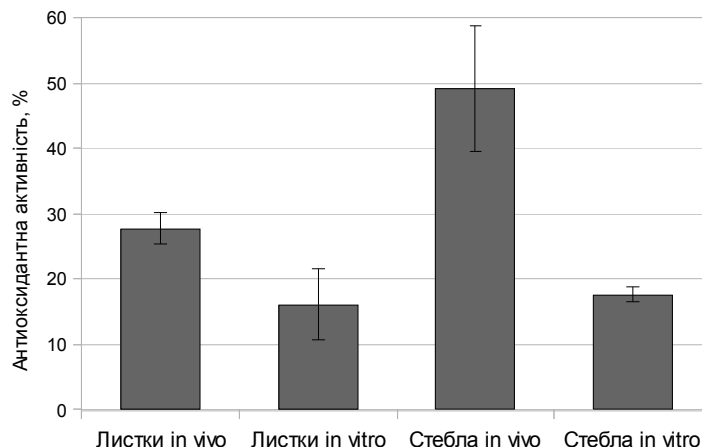


Рис. 2. Антиоксидантна активність в проростках льону вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Тобто, на нашу думку, для підвищення антиоксидантної активності, що залежить від вмісту певних сполук антиоксидантної природи за умов вирощування даних рослин в культурі *in vitro* необхідно використовувати додаткові прекурсори, чи використовувати певні стресові чинники для підвищення вмісту сполук антиоксидантної природи [11]. Дане середовище Мурасіге Скуге може бути використане для культивування, але є необхідним додавання стимулюючих факторів для підвищення продукції сполук, що мають антиоксидантну активність. Зокрема, дані щодо

вмісту антоціанів для обох видів рослин продемонстрували чітку залежність між антиоксидантною активністю та їх вмістом (Рис.3,4). Вміст антоціанів у проростків гречки та льону, вирощених за умов культури *in vitro* був нижчий порівняно з рослинами, що були вирощені за умов *in vivo*. Зокрема, при вирощуванні культур *in vivo* ми припускаємо фактор повного освітлення та аерації, що сприяв накопиченню сполук антоціанової природи. У листках проростків гречки в культурі *in vitro* вміст антоціанів був нижчим майже вдвічі чим в культурі *in vivo*.

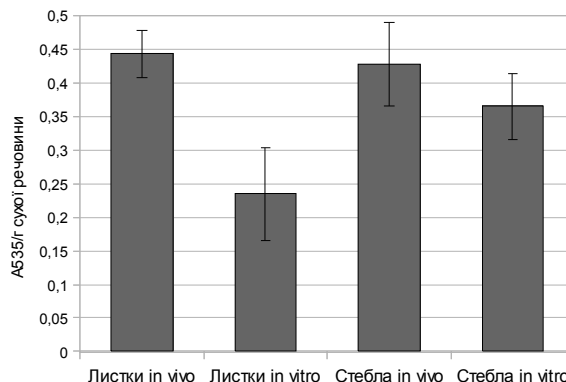


Рис. 3. Вміст антоціанів в проростках гречки вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Проте у проростках льону, як в стеблах, так і в листках вміст антоціанів був однаковий, що за умов вирощування *in vivo*, так і за умов вирощування *in vitro* (Рис.4). Але вміст антоціанів у листках проростків льону порівняно з листками проростків гречки був нижчим на

33%. Але стебла містили однакову кількість антоціанів, як в проростках гречки, так і в проростках льону. Також антиоксидантна активність у стеблах проростків льону за умов *in vitro* була на тому ж рівні у стеблах гречки, вирощених за умов *in vitro*.

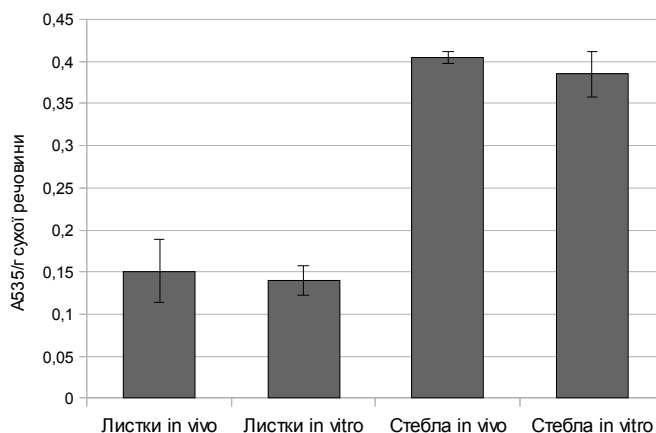


Рис. 4. Вміст антоціанів в проростках льону вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Попередніми дослідженнями було продемонстровано високу антиоксидантну активність спиртового екстракту з льону (*Linum usitatissimum*) [12]. Результати наших досліджень свідчать також про високу антиоксидантну активність метанольних екстрактів проростків льону (особливо сетанольних екстрактів зі стебел). Таким чином результати досліджень свідчать про високу антиоксидантну активність метанольних екстрактів стебел як гречки, так і льону вирощених за умов *in vivo*. Поряд з цим стебла як гречки, так і льону характеризуються високим вмістом антоціанів, як за умов *in vivo*, так *in vitro*. Було продемонстровано залежність між антиоксидантною активністю та вмістом антоціанів у екстрактах проростків гречки та льону, що були вирощені, як за умов *in vivo*, так і *in vitro*.

Список використаної літератури. 1. Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat, and wheat as affected by sprouting and baking// Food Chemistry. – 2010. – Vol.119 №2. – P. 770-778. 2. Chie R. In vitro culture of Vitis: the effects of light spectrum, manganese sulfate and potassium iodide on morphogenesis// Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1986. – №7. – P.121-134. 3. Bette A., Kutschera U. Pigment accumulation and photosynthesis in developing rye coleoptiles//Bot. Acta. – 1996. – №109. – P.194-198. 4. Gabr A.M.M., Sytar O., Abdelrahman R. A.,

Smetanska I. Production of phenolic acid and antioxidant activity in transformed hairy root cultures of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) // Australian Journal of Basic and Applied Sciences. – 2012. – Vol.6 №7. – P.577-586. 5. Miśta D., Króliczewska B., Zawadzki W., Pecka E., Steininger M., Hull S., Zuk M., Szopa J. The effect of Linola and W92/72 transgenic flax seeds on the rabbit caecal fermentation – *in vitro* study // Pol. J. Vet. Sci. – 2011. – Vol. 14 №4. – P. 557-564. 6. Misawa M. Production of useful plant metabolites. In: Fiechter A, editor. Adv Biochem Eng Biotechnol. Berlin: Springer-Verlag. 1985. – P. 59-88. 7. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin// J.Sci.Technol. – 2004. – Vol. 26 №2. – P. 211-219. 8. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture//Physiologia Plantarum. – 1962. – V.15. – P.473-497. 9. Lange H., Shropshire W., Mohr H. An analysis of phytochrome-mediated anthocyanins synthesis// Plant Physiol. – 1971. – Vol. 47. – P. 649-655. 10. Ling H.Q., Binding H. Improvement of plant regeneration from Linum protoplasts by the induction of somatic embryogenesis // J. Plant Physiol. – 1992. – Vol.139. – №4. – P. 422-426. 11. Westcott N.D., Muir A.D. Chemical studies on the constituents of Linum spp. In Muir, A. D. and Westcott, N. D. (ed.) flax, the genus Linum. Taylor and Francis, London. – 2003. – P. 55-73. 12. Zanwar A.A., Mahabaleshwar V. Hegde, Subhash L. Bodhankar *in vitro* antioxidant activity of ethanolic extract of Linum usitatissimum //Pharmacologyonline. – 2010. – Vol. 1. – P. 683-696. 13. Zuk M., Prescha A., Stryczewska M., Szopa J. Engineering flax plants to increase their antioxidant capacity and improve oil composition and stability // J Agric Food Chem. – 2012. – Vol 60. – №19. – P. 5003-12.

Надійшла до редколегії 14.01.13