

Вольтамперметрическое исследование антиоксидантной активности экстракта *Thymus crebrifolius* Klok.

А.М. Ахметалимова^{1*}, С.К. Кабиева¹,
Г.Н. Мусина², Г.А. Еркинова¹, Р.К. Жаслан¹,
Д.К. Куандыков¹, Е.В. Ситдикова¹,
Ф.Б. Хамхоева¹

¹Карагандинский индустриальный университет, Темиртау, Казахстан
²Карагандинский технический университет имени Абылкаса Сагинова, Караганда, Казахстан
*E-mail: kirra_777@mail.ru

Окислительные процессы в организме являются одним из основных механизмов возникновения синдрома окислительного стресса. Активные формы кислорода играют определяющую роль в развитии свободнорадикальных патологий, которые сопровождаются перекисным окислением липидов, мутагенными изменениями белков и нарушениями клеточного метаболизма. Представляет интерес изучения антиоксидантной активности сухого экстракта тимьяна частolistого (*Thymus crebrifolius* Klok.) в сравнении с аскорбиновой кислотой методом вольтамперметрии.

Показано, что экстракт тимьяна частolistого (*Thymus crebrifolius* Klok.) проявил коэффициент антиоксидантной активности (КАА) равный $1,36 \pm 0,06$, рассчитанный на основании изменения тока восстановления по сравнению с контрольным раствором. В исследовании был взят 40% водно-спиртовой раствор экстракта тимьяна частolistого, полученного методом ультразвуковой экстракции. Извлечение проводили из верхней части растения (листья, молодые побеги, цветки) при комнатной температуре, 40 кГц дважды по 30 мин. Полученные данные свидетельствуют о наличии выраженной антиоксидантной активности у экстракта тимьяна, что подтверждается его электрохимической реакцией на восстановление. Однако, по сравнению с аскорбиновой кислотой, активность была ниже, что, вероятно, обусловлено меньшей концентрацией фенольных соединений или более сложной матрицей экстракта.

Ключевые слова: *Thymus crebrifolius* Klok.; антиоксидантная активность; аскорбиновая кислота; ультразвуковая экстракция; вольтамперметрия.

Thymus crebrifolius Klok. сығындының антиоксиданттық белсенділігін вольтамметриялық зерттеу экстракциясы

А.М. Ахметалимова^{1*}, С.К. Кабиева¹,
Г.Н. Мусина², Г.А. Еркинова¹, Р.К. Жаслан¹,
Д.К. Куандыков¹, Е.В. Ситдикова¹,
Ф.Б. Хамхоева¹

¹Қарағанды индустриалды университеті, Теміртау, Қазақстан
²Әбілқас Сағынов атындағы Қарағанды техникалық университеті, Қарағанды, Қазақстан
*E-mail: kirra_777@mail.ru

Ағзадағы тотығу процестері тотығу стресс синдромының негізгі механизмдерінің бірі болып табылады. Белсенді оттегі түрлері липидтердің асқын тотығуымен, ақуыздардағы мутагендік өзгерістермен және жасушалық метаболизмнің бұзылуымен жүретін бос радикал патологияларының дамуында шешуші рөл атқарады. Құрғақ тимьян сығындысының антиоксиданттық белсенділігін вольтамметрия көмегімен аскорбин қышқылымен салыстырғанда зерттеу қызықты.

Тимьян (*Thymus crebrifolius* Klok.) сығындысы бақылау ерітіндісімен салыстырғанда қалпына келтіру тоғының өзгеруіне негізделген $1,36 \pm 0,06$ антиоксиданттық белсенділік коэффициентін көрсететіні көрсетілді. Зерттеу кезінде ультрадыбыстық экстракция арқылы алынған тимьян сығындысының 40% сулы-спирт ерітіндісі қолданылды. Экстракция өсімдіктің жоғарғы бөлігінен (жапырақтар, жас өскіндер, гүлдер) бөлме температурасында, 40 кГц екі рет 30 мин бойы жүргізілді. Алынған деректер тимьян сығындысында айқын антиоксиданттық белсенділіктің болуын көрсетеді, бұл оның тотықсыздануға электрохимиялық реакциясымен расталады. Алайда, аскорбин қышқылымен салыстырғанда белсенділік төмен болды, бұл фенолдық қосылыстардың төмен концентрациясына немесе сығындының күрделі матрицасына байланысты болуы мүмкін.

Түйін сөздер: *Thymus crebrifolius* Klok.; антиоксиданттық белсенділік; аскорбин қышқылы; ультрадыбыстық экстракция; вольтамметрия.

Voltammetric study of antioxidant activity of the extract *Thymus crebrifolius* Klok.

A.M. Akhmetaliyeva^{1*}, S.K. Kabieva¹,
G.N. Musina², G.A. Erkinova¹,
R.K. Zhaslan¹, D.K. Kuandykov¹,
E.V. Sitdikova¹, F.B. Khamkhoeva¹

¹Karaganda Industrial University, Temirtau, Kazakhstan
²Abylka Saginov Karaganda Technical University, Karaganda, Kazakhstan
*E-mail: kirra_777@mail.ru

Oxidative processes in the body are one of the main mechanisms of oxidative stress syndrome. Active oxygen species play a decisive role in the development of free radical pathologies, which are accompanied by lipid peroxidation, mutagenic changes in proteins and cellular metabolism disorders. It is of interest to study the antioxidant activity of the dry extract of *Thymus crebrifolius* Klok. in comparison with ascorbic acid using the voltammetry method.

It was shown that the extract of *Thymus crebrifolius* Klok. exhibited an antioxidant activity coefficient equal to 1.36 ± 0.06 , calculated on the basis of the change in the reduction current compared to the control solution. The study used a 40% aqueous-alcoholic solution of the extract of *Thymus crebrifolius* obtained by ultrasonic extraction. Extraction was carried out from the upper part of the plant (leaves, young shoots, flowers) at room temperature, 40 kHz twice for 30 min. The obtained data indicate the presence of pronounced antioxidant activity in the thyme extract, which is confirmed by its electrochemical reaction to reduction. However, compared to ascorbic acid, the activity was lower, which is probably due to a lower concentration of phenolic compounds or a more complex matrix of the extract.

Keywords: *Thymus crebrifolius* Klok.; antioxidant activity; ascorbic acid; ultrasound-assisted extraction; voltammetry.



Статья (Article)

Вольтамперметрическое исследование антиоксидантной активности экстракта *Thymus crebrifolius* Klok.

А.М. Ахметалимова¹ , С.К. Кабиева¹ , Г.Н. Мусина² , Г.А. Еркинова¹ , Р.К. Жаслан¹ ,
Д.К. Куандыков¹ , Е.В. Ситдикова¹ , Ф.Б. Хамхоева¹

¹Карагандинский индустриальный университет, пр. Республики 30, 101400 Темиртау, Казахстан

²Карагандинский технический университет имени Абылкаса Сагинова, пр. Назарбаева 56, 100000 Караганда, Казахстан

*E-mail: kirra_777@mail.ru

1. Введение

Окислительные процессы в биологических системах являются одним из ключевых механизмов развития синдрома окислительного стресса. Активные формы кислорода (АФК) в физиологических концентрациях участвуют в регуляции клеточной сигнализации, однако их избыточное образование приводит к повреждению липидов мембран, белков и нуклеиновых кислот. Для поддержания редокс-гомеостаза в организме функционирует антиоксидантная система, включающая ферментативные и неферментативные компоненты.

В настоящее время значительный интерес представляет поиск природных источников антиоксидантов. По данным литературы, около 40% лекарственных препаратов имеют растительное происхождение [1]. Особое внимание уделяется растениям рода *Thymus* L., обладающим антимикробной, противовирусной и антиоксидантной активностью. Биологическая активность представителей данного рода обусловлена присутствием полифенольных соединений, флавоноидов и фенольных кислот.

Несмотря на наличие публикаций, посвящённых оценке антиоксидантной активности различных видов тимьяна, данные по эндемичному виду *Thymus crebrifolius* Klok. в доступной литературе практически отсутствуют. Кроме того, электрохимические методы оценки антиоксидантной активности обладают рядом преимуществ по сравнению с спектрофотометрическими методами — высокой чувствительностью, быстротой и возможностью прямой регистрации процессов восстановления кислорода.

Целью настоящей работы являлось исследование антиоксидантной активности сухого экстракта *Thymus crebrifolius* Klok. методом катодной вольтамперметрии на ртутно-плёночном электроде и сравнение полученных результатов с аскорбиновой кислотой.

По литературным данным проведены исследования по антимикробной [3], антиоксидантной [2], противовирусной активности [4], а также изучен акарицидный эффект [5] эфирных масел растений рода Тимьян. При этом антиоксидантная активность экстрактов эндемичных представителей данного рода растения изучены недостаточно. Сухие экстракты показывают большую антиоксидантную активность по сравнению с густыми экстрактами тех же растений. Возможно, это связано с большей концентрацией воды и соответственно меньшим содержанием БАВ антиоксидантной природы в одном и том же объеме образца [6]. Основными соединениями, обеспечивающими антиоксидантную активность лекарственного растительного сырья, являются полифенольные соединения [7].

На настоящий момент электрохимические методы характеризуются высокой чувствительностью и быстротой, предел обнаружения полифенолов и флавоноидов находится на уровне 10^{-9} - 10^{-12} г. В некоторых исследованиях описано применение циклической вольтамперметрии (ЦВА) для определения K_{AA} (коэффициент антиоксидантной активности) экстрактов растений [8, 9]. Известен метод вольтамперметрического определения содержания антиоксидантов в водных экстрактах некоторых видов чая и растительных добавок [10].

Современная литература подтверждает, что электрохимические методы (циклограммная вольтапе-

рометрия, дифференциальная пульс-вольтамперометрия и др.) являются эффективным инструментом для количественной оценки антиоксидантной активности растительных экстрактов и биопродуктов. В частности, в статье систематизируется применение различных электрохимических подходов к оценке антиоксидантной активности лекарственных растений и продуктов, подчёркивая преимущества чувствительности и простоты этих методов по сравнению с конвенциональными спектрофотометрическими тестами [11]. Анализ современных сенсорных и электрохимических методик показывает, что измерение редокс-поведения антиоксидантов становится ключевым для быстрого и точного определения их активности [12]. Подобные подходы были успешно применены к экстрактам *Thymus vulgaris*, где показано, что электрохимические параметры коррелируют с общей антиоксидантной способностью экстракта [13].

Перспективным направлением оценки антиоксидантной активности является использование катодной вольтамперометрии, основанной на регистрации тока восстановления растворённого кислорода. В ходе экспериментов было продемонстрировано, что изменение катодного тока в присутствии растительных экстрактов коррелирует с их антиоксидантной способностью [14]. Авторы отметили высокую чувствительность метода и его применимость для экспресс-оценки антиоксидантной активности природных образцов. Такой подход позволяет оценивать суммарный антиоксидантный эффект без необходимости предварительного разделения компонентов экстракта.

Электрохимические методы успешно применяются для исследования антиоксидантных свойств ароматических растений. Исследователи показали эффективность вольтамперметрических подходов при оценке антиоксидантной активности экстрактов розмарина и шалфея [15]. Было установлено, что параметры вольтамперограмм тесно связаны с содержанием фенольных соединений и общей антиоксидантной способностью образцов. Полученные результаты подтверждают, что электрохимические методы позволяют оперативно и достоверно характеризовать антиоксидантный потенциал растительного сырья.

Целью данной работы было исследование антиоксидантной активности сухого экстракта тимьяна частолистого (*Thymus crebriifolius* Klok.) в сравнении с аскорбиновой кислотой методом вольтамперометрии.

2. Эксперимент

Вольтамперметрические измерения проводили на комплексе СТА (ТУ 4215-0011-20694097-2012) в трехэлектродной электрохимической ячейке.

Электродная система:

- рабочий электрод – ртутно-плёночный на стеклоуглеродной подложке (диаметр 3 мм);
- электрод сравнения – хлорсеребряный (Ag/AgCl, насыщенный KCl);
- вспомогательный электрод – платиновая проволока.

Формирование ртутной плёнки

Ртутную плёнку формировали электроосаждением из 0,01 М раствора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ в 0,1 М KNO_3 при потенциале -0,9 В в течение 120 с. Перед каждой серией измерений плёнку обновляли. Толщина плёнки контролировалась по величине заряда осаждения.

Фоновый раствор

В качестве фонового электролита использовали 0,1 М фосфатный буфер (pH = 6,8). Измерения проводили при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в стационарных условиях без перемешивания.

Параметры регистрации сигнала

- диапазон потенциалов: от 0 до -1,2 В
- скорость развертки: 50 мВ/с
- направление сканирования: катодное
- время накопления: 0, 3, 6, 9, 12 с

Образцы

Концентрация аскорбиновой кислоты составляла $1,0 \times 10^{-3}$ М.

Экстракт *Thymus crebriifolius* получали методом ультразвуковой экстракции (40 кГц, 2×30 мин) из надземной части растения (листья, молодые побеги, цветки). Для анализа использовали 40% водно-спиртовой раствор. Условная концентрация по сухому остатку составляла 0,5 мг/мл.

Каждое измерение проводили в трёх повторностях ($n = 3$). Результаты представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартное отклонение. Относительная погрешность измерений не превышала 5%.

Расчёт коэффициента антиоксидантной активности

Для количественной обработки вольтамперметрических данных был выбран средний пик тока (I), отражающий основной процесс восстановления раствора. Дополнительно фиксировались значения токов при различных временах накопления ($R = 0, 3, 6, 9$ с).

Для анализа антиоксидантной активности и растворимости кислорода в различных растворителях (контрольный раствор – фосфатный буфер, второй раствор – аскорбиновой кислоты или экстракта тимьяна частолистого) был рассчитан коэффициент t_g , определяемый по формуле:

$$tg = \frac{I_0 - I(R)}{I_0}$$

где I_0 — ток при $R=0$; $I(R)$ — значение тока при заданном времени накопления R .

Полученные значения использовали для построения линейной зависимости:

$$tg(R) = kR + b$$

где k — коэффициент наклона; b — свободный член.

Коэффициенты наклона линейной регрессии (k) при аппроксимации зависимости высчитывались по стандартной формуле линейной регрессии:

$$k = \frac{\sum (R - \bar{R})(tg - \bar{tg})}{\sum (R - \bar{R})^2}$$

Коэффициент наклона k определяли методом наименьших квадратов по точкам: $R=0, 3, 6$ (с).

Коэффициент антиоксидантной активности рассчитывали как отношение модулей коэффициентов наклона:

$$K_{AA} = \frac{k_{\text{образец}}}{k_{\text{контроль}}}$$

Таблица 1 — Данные силы тока аскорбиновой кислоты и контрольного растворов при заданных интервалах времени

I_1	I_2	R	tg_1	tg_2
20,867	25,801	0		
26,6	25,95	3	0,035	0,139
25,79	24,973	6	0,064	0,171
25,26	24,395	9	0,083	0,190

где I_1 — ток исследуемого раствора, I_2 — ток контрольного раствора;

tg_1 — относительное изменение для I_1 , tg_2 — относительное изменение для I_2

Таблица 2 — Данные силы тока экстракта тимьяна частолистого и контрольного растворов при заданных интервалах времени

I_1	I_2	R	tg_1	tg_2
26,761	28,818	0		
25,845	27,362	3	0,062	0,092
26,707	27,413	6	0,031	0,090
26,727	27,488	9	0,030	0,088

где $k_{\text{контроль}}$ — наклон для контрольного раствора, $k_{\text{образец}}$ — наклон для исследуемого образца.

Таким образом, величина tg показывает относительное изменение тока по мере увеличения времени накопления.

Построенные графики зависимости tg от R демонстрируют линейный характер изменения параметров. Наклон прямой служил основанием для вычисления коэффициента K .

3. Результаты и обсуждения

Результаты представлены в таблицах 1-2 и на рисунках 1-2 и количественно выражены через коэффициент антиоксидантной активности (K_{AA}), рассчитанный на основании изменения тока восстановления по сравнению с контрольным раствором.

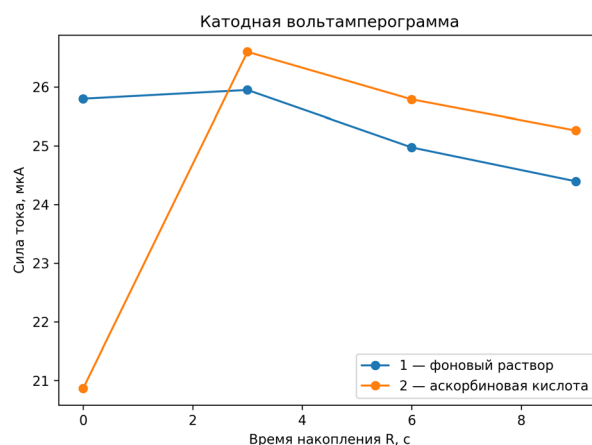


Рисунок 1 — Катодная вольтамперограмма аскорбиновой кислоты (1×10^{-3} М) в 0,1 М фосфатном буфере (pH 6,8); скорость развертки 50 мВ/с; ртутно-плёночный электрод

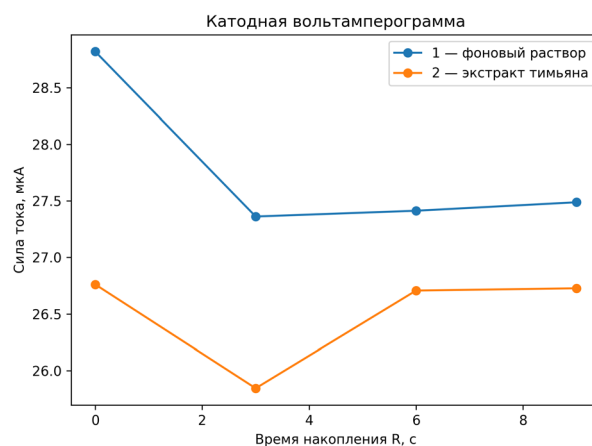


Рисунок 2 — Катодная вольтамперограмма экстракта *Thymus crebrifolius* (0,5 мг/мл) при аналогичных условиях

Линейное уравнение: $y=0,0086x+0,1409$;

$R^2=0,9785$;

$k_{\text{аскорбиновой к-ты}}=0,0086$.

$$K_{AA} = \frac{k_{\text{образец}}}{k_{\text{контроль}}} = \frac{0,0086}{0,00415} = 2,07 \pm 0,08$$

Расчет активности аскорбиновой кислоты составлен по данным графика вольтамперметрической зависимости антиоксидантной активности аскорбиновой кислоты (рисунок 3).

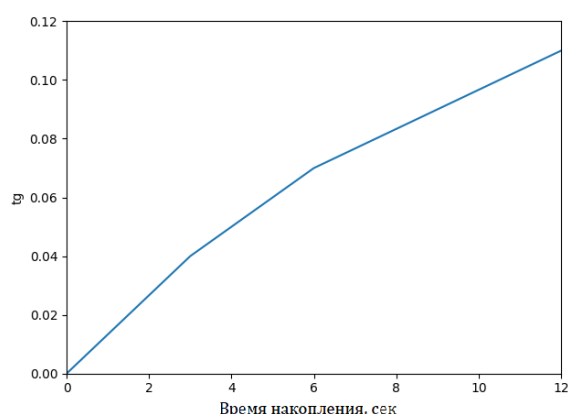


Рисунок 3 – Зависимость tg от времени накопления для аскорбиновой кислоты

Линейное уравнение: $y=0,0053x+0,0568$;

$R^2=0,9767$

$k_{\text{экстракт тимьяна}} = 0,0053$.

$$K_{AA} = \frac{k_{\text{образец}}}{k_{\text{контроль}}} = \frac{0,0053}{0,0039} = 1,36 \pm 0,06$$

Расчет активности экстракта тимьяна частолистого составлен по данным графика вольтамперметрической зависимости антиоксидантной активности экстракта тимьяна частолистого и контрольного образца (рисунок 4).

На вольтамперограммах регистрируется катодный пик, соответствующий процессу восстановления растворённого кислорода.

В работе не предполагается образование амальгам органических соединений. Изменение величины катодного тока связано со способностью антиоксидантных компонентов взаимодействовать с активными формами кислорода, снижая их концентрацию в электрохимической ячейке.

Для аскорбиновой кислоты коэффициент антиоксидантной активности составил:

$K_{AA} = 2,07 \pm 0,08$.

Для экстракта *Thymus crebrifolius*:

$K_{AA} = 1,36 \pm 0,06$.

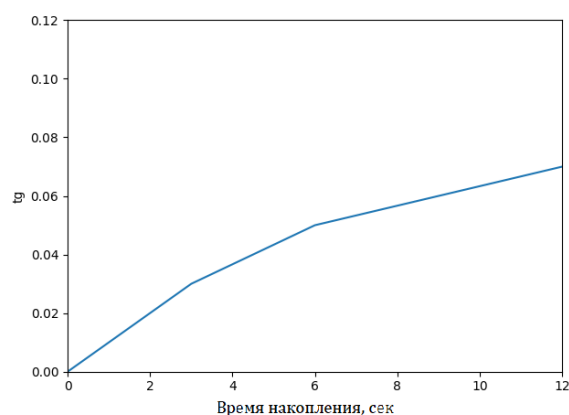


Рисунок 4 – Зависимость tg от времени накопления для экстракта *Thymus crebrifolius*

Полученные результаты свидетельствуют о выраженной антиоксидантной активности экстракта, однако она ниже по сравнению с аскорбиновой кислотой, что может быть обусловлено более сложным составом активных фенольных соединений.

Линейность зависимости tg от времени накопления подтверждена коэффициентами корреляции ($R^2 > 0,98$).

4. Заключение

Методом катодной вольтамперметрии на ртутно-плёночном электроде исследована антиоксидантная активность экстракта *Thymus crebrifolius* Klok.

Установлено, что экстракт проявляет выраженные антиоксидантные свойства ($K_{AA} = 1,36 \pm 0,06$), уступающие по интенсивности аскорбиновой кислоте ($K_{AA} = 2,07 \pm 0,08$).

Полученные данные расширяют сведения о биологической активности эндемичного вида *Thymus crebrifolius* и подтверждают перспективность применения электрохимических методов для экспресс-оценки антиоксидантной активности растительных экстрактов.

Благодарности

Результаты получены с использованием оснащения Карагандинского Индустриального Университета.

Описание вклада авторов CRediT

А.М. Ахметалимова: исследование, руководство, написание. **С.К. Кабиева:** концептуализация, курирование данных. **Г.Н. Мусина:** курирование данных, исследование. **Г.А. Еркинова:** исследование, визуализация. **Д.К. Куандыков:** написание – проверка и редактирование. **Е.В. Ситдикова:** исследование, редактирование. **Ф.Б. Хамхоева:** программное обеспечение, написание первой версии.

Литература

- 1 Vasfilova ES, Mukhina VA (2014) Wild medicinal plants of the Urals [Dikorastushchie lekarstvennye rasteniya Urala]. Yekaterinburg, Russia. (In Russian). ISBN 978-5-9796-1087-6.
- 2 Vardanyan LR, Ajrapetyan SA, Vardanyan RL, Avetisyan AEH (2013) Chemistry of plant materials [Himiya rastitel'nogo syr'ya] 3:143-148. (In Russian) (2009) GOST R 53372-2009. Gold. Methods of analysis methods [Zoloto. Metody analiza]. Standartinform, Moscow, Russia. (In Russian)
- 3 Amarti FM, Ajjour El, Ghanmi M et al (2011) Phytothérapie 9:149-157. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0625-6>
- 4 Boubaker–Elandalousi R, Mekni–Toujani M, Diouani M et al (2014) BMC Vet Res 10:231. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0231-6>
- 5 Lee CH, Lee SG, Lee HS (2010) J Korean Soc Appl Bi 53:170-174. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.028>
- 6 Mihnevich EI, Gumenyuk AS (2020) Study of antioxidant activity of plant extracts from Siberian flora using voltammetry [Issledovanie antioksidantnoj aktivnosti ehkstraktov rastenij flory Sibiri metodom vol'tamperometrii]. Abstracts of the XXI International scientific and practical conference of students and young scientists named after the outstanding chemists L. P. Kulev and N. M. Kizhner, dedicated to the 110th anniversary of the birth of Professor A. G. Stromberg "Chemistry and Chemical Technology in the 21st Century", Tomsk, Russia. P. 268-269. (In Russian)
- 7 Ivanova AV, Gerasimova EL, Gazizullina ER (2017) 72:415-420. <https://doi.org/10.1134/S1061934817040049>
- 8 Kohen R, Vellaichamy E, Hrbac J, Gaty I, Tirosh O (2000) Free Radical Bio Med 28:871-879. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00191-x](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00191-x)
- 9 Chen J, Gorton L, Akersson B (2002) Anal Chim Acta 474:137-146. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00139-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00139-0)
- 10 Misin VM, Sazhina NN, Korotkova EI (2011) Chemistry of plant materials [Himiya rastitel'nogo syr'ya] 2:137-143. (In Russian)
- 11 Ziyatdinova GK, Kalmykova AA (2023) Molecules 28:2308. <https://doi.org/10.3390/molecules28052308>
- 12 Apetrei C, Apetrei IM (2019) Sensors 19:1203. <https://doi.org/10.3390/s19051203>
- 13 Amamra S, Oum B, Pilar S, Abderrahmane B (2018) Int J Electrochem Sc 13:7882-7893. <https://doi.org/10.20964/2018.08.57>
- 14 Ziyatdinova G, Budnikov H, Pogorelova S (2020) J Electroanal Chem 878:114585. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114585>
- 15 Apetrei C, Apetrei IM, Villanueva S, Rodriguez-Mendez ML (2021) Food Chem 342:128345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128345>

Сведения об авторах:

А.М. Ахметалимова – PhD, старший преподаватель кафедры Химической технологии и экологии, Карагандинский индустриальный университет (Темиртау, Казахстан, e-mail: kirra_777@mail.ru);

С.К. Кабиева – профессор, к.х.н., заведующая кафедры химической технологии и экологии, Карагандинский индустриальный университет (Темиртау, Казахстан, e-mail: s.kabieyeva@tttu.edu.kz);

Г.Н. Мусина – к.х.н., доцент кафедры химии и химических технологий, Карагандинский технический университет имени Абылкаса Сагинова (Караганда, Казахстан, e-mail: kgiu_gz2@mail.ru);

Г.А. Еркинова – преподаватель кафедры химической технологии и экологии, Карагандинский индустриальный университет (Темиртау, Казахстан, e-mail: tdfyhjbb@gmail.com);

Р.К. Жаслан – PhD, ассоциированный профессор кафедры химической технологии и экологии, Карагандинский индустриальный университет (Темиртау, Казахстан, e-mail: rymgul.zhaslan@mail.ru);

Д.К. Куандыков – доцент, старший преподаватель кафедры химической технологии и экологии, Карагандинский индустриальный университет (Темиртау, Казахстан, e-mail: kuandykov.d.k@gmail.com);

Е.В. Ситдикова – магистр естественных наук, старший преподаватель кафедры химической технологии и экологии, Карагандинский индустриальный университет (Темиртау, Казахстан; e-mail: lena.alive@mail.ru);

Ф.Б. Хамхоева – магистрант кафедры химической технологии и экологии, Карагандинский индустриальный университет (Темиртау, Казахстан, e-mail: fatimakhamhoeva06@gmail.com).