

**STUDY OF THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE  
COMPOUNDS IN MONARDA DIDYMA LEAVES WITH AIM OF THE USE  
OF SPISE-AROMATIC PHYTO RAW MATERIALS IN PRODUCTION OF  
CRACKERS WITH EXTENDED SHELF LIFE**

**ВИВЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК  
У ЛИСТІ МОНАРДИ ДВІЙЧАСТОЇ З МЕТОЮ ВИКОРИСТАННЯ  
ПРЯНО-АРОМАТИЧНОЇ ФІТОСИРОВИНИ ПРИ СТВОРЕННІ  
КРЕКЕРУ З ПОДОВЖЕНИМ ТЕРМІНОМ ПРИДАТНОСТІ**

**V.I. Obolkina**, d.t.s., prof., **T.T. Nosenko**, d.t.s., prof.,

**O.O. Dzyhar**, post-graduate student

*National University of Food Technologies*

**D.B. Rakhmetov**, d.a.s., prof.

*M.M. Hryshko National Botanical Garden*

**В.І. Оболкіна**, д.т.н., проф., **Т.Т. Носенко**, д.т.н., проф., **О.О. Дзигар**, аспірант

*Національний університет харчових технологій*

**Д.Б. Рахметов**, д.с.-г.н., проф.

*Національний ботанічний сад імені М. М. Гришка НАН України*

***Summary.** It was determined the content of biologically active compounds in leaves of monarda didyma, it was identified the composition of such components as phenolic and aromatic compound, terpenes, terpenoids, sugars and other substances. The high antioxidant potential of raw materials is proven due to the presence of phenolcarbonic acids, flavonoids and also the bactericidal properties due to the content of thymol, carvacrol, d-germacrene,  $\alpha$ -terpinolene. The efficiency of the use of native spice-aromatic phyto raw materials as natural antioxidant, preservation*

*agent and flavoring in the technologies of new food products, especially crackers with spicy taste, is substantiated.*

**Анотація.** *Визначено вміст біологічно активних сполук у листі монарди двійчастої, ідентифіковано склад фенольних, ароматичних сполук, терпенів, терпеноїдів, цукрів та інших речовин. Доведено високий антиоксидантний потенціал сировини, завдяки наявності фенолкарбонових кислот, флавоноїдів та бактерицидні властивості завдяки вмісту тимолу, карвакролу, d-гермакрину, альфа-терпіноліну. Обґрунтовано ефективність використання вітчизняної пряно-ароматичної фітосировини у технологіях нових харчових продуктів, зокрема крекерів з пікантним смаком, як природного антиоксиданта, консерванта, ароматизатора.*

**Key words:** *monarda didyma, biologically active compounds, antioxidants, aromatic compounds, preservation agents, spice-aromatic phyto raw materials, phenolic compounds*

**Ключові слова:** *монарда двійчаста, біологічно активні речовини, антиоксиданти, ароматичні сполуки, консерванти, пряно-ароматична фітосировина, фенольні сполуки*

**Постановка проблеми.** Пряно-смакові рослини є перспективним джерелом для харчової галузі, зокрема кондитерської. Ефірні олії, цукри, дубильні та фенольні речовини відіграють важливу роль у забезпеченні смаку і аромату кондитерських виробів. Перспективною рослинною фітосировиною, що має приємний смак та аромат, підвищений вміст біологічно активних речовин, які виявляють позитивну дію на організм людини, зокрема, антиоксидантну, протекторну, антисептичну, протизапальну є листя монарди двійчастої.

Монарда двійчаста (*Monarda didyma*) – багаторічна трав'яниста рослина, що належить до родини Lamiaceae. Культивуються переважно види рослин

*M.didyma*, *M.fistulosa*, *M.punctata* та *M.citriodora*. Їх використовують в харчовій, ефіроолійній промисловості та медицині. Ефірна олія монарди має високу бактерицидну активність, яка зберігається при переробці сировини. У США *M. punctata*, *M. fistulosa* та *M. didyma* з 1882 по 1950 рік входили у Фармакопею як джерело рослинного тимолу. Антисептик тимол широко використовують в медицині як фунгіцидний, бактерицидний та антигельмінтний засіб [1–6].

Якість продуктів, виготовлених з додаванням пряно-ароматичної сировини, залежить від таких смакоутворюючих речовин як цукри, кислоти, дубильні речовини, флавоноїди тощо. Але перш за все пряно-ароматичні рослини цінують за вміст ефірної олій, яка надає фітомасі приємного аромату. Види роду *Monarda* давно користуються популярністю в Європі, як перспективні ефіроолійні рослини. Селекційні дослідження та вивчення компонентного складу ефірної олії рослин *M. fistulosa* та *M. didyma* проводилися в Росії, Молдові та Литві [7–11].

Листя монарди є джерелом натуральних антиоксидантів, в першу чергу фенольних сполук, які здатні швидко реагувати з пероксидними радикалами, руйнувати гідропероксиди без утворення вільних радикалів, що спричиняє розривання ланцюга окисних реакцій і сповільнення швидкості окиснення жирів під час зберігання, тим самим подовжуючи термін придатності виробів [12–13]. На відміну від країн Європи та Америки, де монарда введена в культуру як пряно-ароматична та лікарська рослина, в Україні вона не набула значного поширення.

Фенольні сполуки, які присутні у рослинах, рідко зустрічаються у вільному стані. Більшість їх представлено у вигляді різноманітних О- і С-глікозидів. Різноманіття флавоноїдних глікозидів обумовлено значним набором цукрів (глюкози, арабінози, ксилози та ін.) і можливостями приєднання їх в положенні агліконів, а також тим, що цукри можуть мати різну конфігурацію глікозидних зв'язків. Отже, ідентифікаційне та кількісне визначення фенольних сполук у рослинній сировині потребує багатосторонніх досліджень. Тому для

досліджень було використано комплекс методів, що доповнюють один одного. Найбільш доцільним є метод вискоєфективної рідинної хроматографії, який дає можливість визначити класи органічних сполук.

Метою досліджень було вивчення хімічного складу та визначення вмісту біологічно активних сполук у листі монарди двійчастої і можливості застосування вітчизняної пряно-ароматичної фітосировини у виробництві нових борошняних кондитерських виробів, зокрема, крекерів з пікантним смаком.

### **Об'єкти та методи досліджень.**

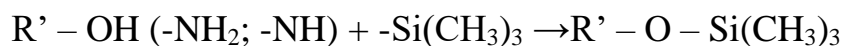
Об'єктом досліджень було листя монарди двійчастої (*Monarda didyma*), зразки отримували у Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України. Дослідження хімічного складу листя монарди двійчастої проводили у лабораторії НВК «Екофарм» методами:

- ультрашвидкісної вискоєфективної рідинної хроматографії (UPLC) при діодноматричному детектуванні (PDA), який одночасно записує електронний спектр поглинання сполук. Результати отримані на приладі фірми WATERS(USA). Аналіз проводили в градієнтному режимі зміни складу рухомої фази (ацетонитрил-вода). Колонка ACQUITY UPLC®BEHC<sub>18</sub> 1,7 μm, 50\*2,1 mm;

- спектроскопії. Результати були отримані на приладі фірми Spescord 210 Plus (Німеччина);

- газової хроматографії з масс-селективним детектуванням та бібліотекою масс-спектрів до і після кислотного гідролізу вихідних та модифікованих (TMS дериватів) форм. Результати були отримані на приладі фірми Agilent GC/MSD 7890A/5975C з капілярною колонкою HP-5MS.

Оскільки органічні сполуки, що містять рухливий атом водню (вуглеводи, кислоти, флавоноїди, та ін.), погано піддаються аналізу методом газової хроматографії, на практиці використовують метод заміщення протону на більш гідрофобну групу, що дає можливість застосувати метод газової хроматографії:



З цією метою успішно використовують ангідриди, хлорангідриди, альдегіди, хлорвмісні сполуки. В результаті, утворюється гідрофобна сполука, що покращує хроматографічні характеристики, селективність, а також робить достовірну ідентифікацію. Застосування мас-селективного детектора суттєво підвищує ефективність ідентифікаційного процесу (за наявності бібліотеки мас-спектрів). У зв'язку з тим, що сполуки з рухливими атомами водню в рослинах присутні у кон'югованому вигляді і такі форми складні для ідентифікації, було використано для отримання вільних агліконів кислотний гідроліз. Після проведення гідролізу, аглікони виділяли екстракційним методом. Також досліджували етанольні розчини гідролізатів після видалення в вакуумі розчинника (етилового спирту).

Для ідентифікації сполук з рухливими атомами було використано метод дериватизації (отримання похідних), що дозволяє збільшувати молекулярну масу вихідної сполуки на відому величину, проводити більш якісне хроматографування, а також, збільшивши її вихідну молекулярну масу – достовірну ідентифікацію. В дослідженнях використовували для цієї мети реагент N-метил-N-триметилсиліл-трифторацетамід (TMS).

**Отримання етанольного концентрату (органічних сполук).** Наважку сухої подрібненої сировини (2,5 г) переносили у плоскодонну колбу об'ємом 100 мл, доливали 60 мл 96% етилового спирту і приєднували до зворотного холодильнику та витримували на киплячій водяній бані протягом 90 хв. Після цього водяну баню охолоджували, холодильник промивали 5 мл етиловим спиртом і вміст колби переносили (відфільтровували) в мірну колбу об'ємом 100 мл. Потім в колбу додавали 35 мл етилового спирту і повторювали процедуру. Об'єм етанольного концентрату доводили до 100 мл.

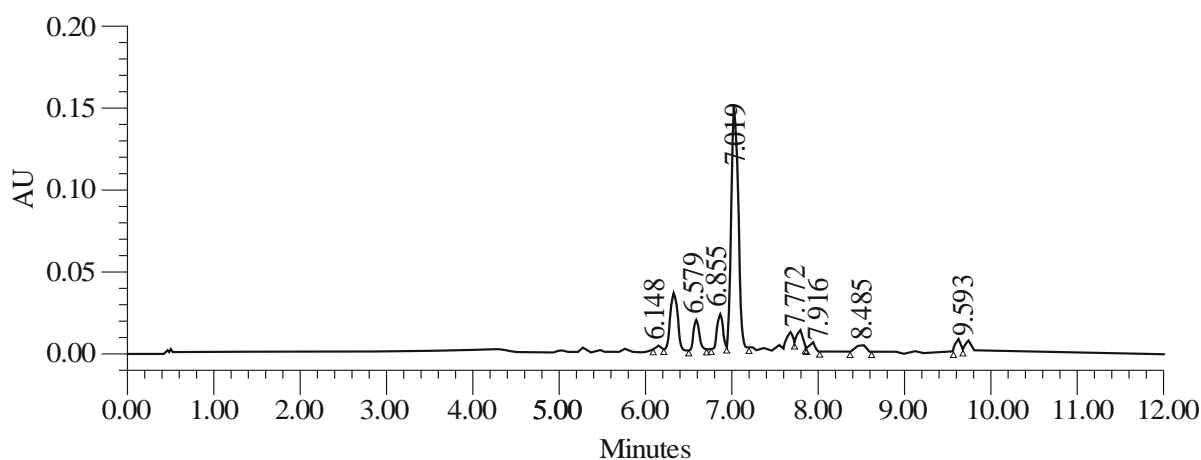
**Проведення кислотного гідролізу.** Наважку сировини (приблизно 0,4 г) зваженої з точністю до четвертого знаку, переносили у плоскодонну колбу об'ємом 100 мл, додавали 20 мл етилового спирту, 20 мл дистильованої води та

10 мл концентрованої соляної кислоти. Після приєднання колби до зворотного холодильнику, на киплячій водяній бані суміш витримували 90 хв. Після чого, холодильник промивали 20 мл дистильованої води, охолоджували колбу. Вміст колби переносили в ділільну воронку через паперовий фільтр об'ємом 100 мл, вносили 25 г хлориду натрію, ретельно перемішували і вилучали органічні сполуки етилацетатом (попередньо додавши до нього воду) – двічі по 30 мл. Після висушування етилацетатних екстрактів безводним сульфатом натрію, органічний розчинник відганяли у вакуумі. Залишок після відгонки розчиняли в 50 мл етилового спирту.

**Отримання TMS дериватів.** 5 мл етанольного концентрату зразку поміщали у віалу і при 78 °С видаляли етиловий спирт. До сухого залишку доливали 300 мкг безводного піридину і 100 мкг реагенту N-метил-N-триметилсиліл-трифторацетамід. Віалу закривали і поміщали в УЗБ на 30 хв. Після цього у віалу додавали 1 мл ацетонітриду, перемішували і проводили дослідження методом ГХ/МС згідно описаної методики.

### Результати досліджень

Розділення етанольного концентрату методом UPLC-PDA засвідчує наявність в них фенольних та поліфенольних сполук (рис. 1). Даний аналіз дав можливість ідентифікувати 8 сполук. Визначено кількісне співвідношення між цими сполуками (табл. 1).

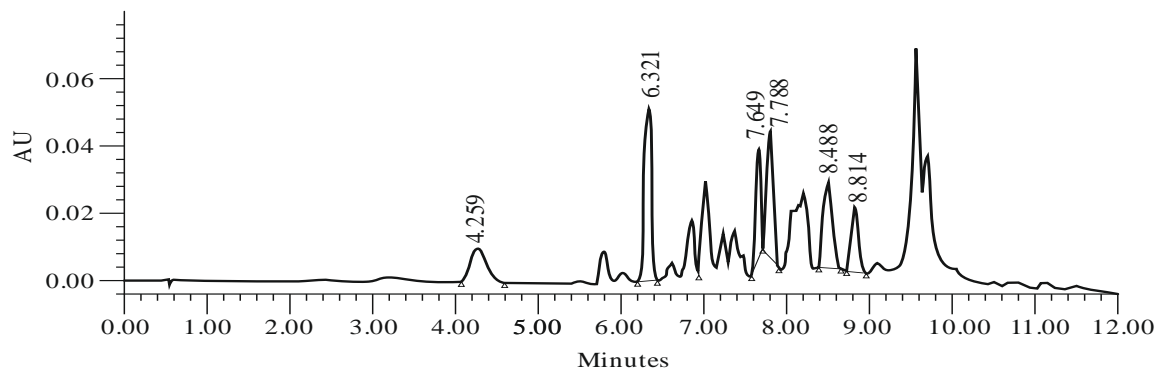


**Рис. 1. Хроматограма вихідного етанольного концентрату (PDA 335.0 nm)**

**Таблиця 1 – Кількісне співвідношення сполук (PDA 335.0 nm)**

№	Об'єм зразка	Тривалість утримання, хв	Масова частка від суми, %
1	0,50	6,148	0,77
2	0,50	6,579	7,58
3	0,50	6,855	8,79
4	0,50	7,019	72,82
5	0,50	7,772	3,23
6	0,50	7,916	1,87
7	0,50	8,485	2,94
8	0,50	9,593	2,00

Після проведення кислотного гідролізу наважки сировини, тривалість утримання компонентів гідролізату відрізнялась від вихідного етанольного концентрату (рис. 2). На хроматограмі були ідентифіковані фенолкарбонові кислоти (4,26; 8,81 хв.) та флавоноїди (6,32; 7,65; 7,79 та 8,49 хв.). Визначено кількісне співвідношення компонентів гідролізату (табл. 2).

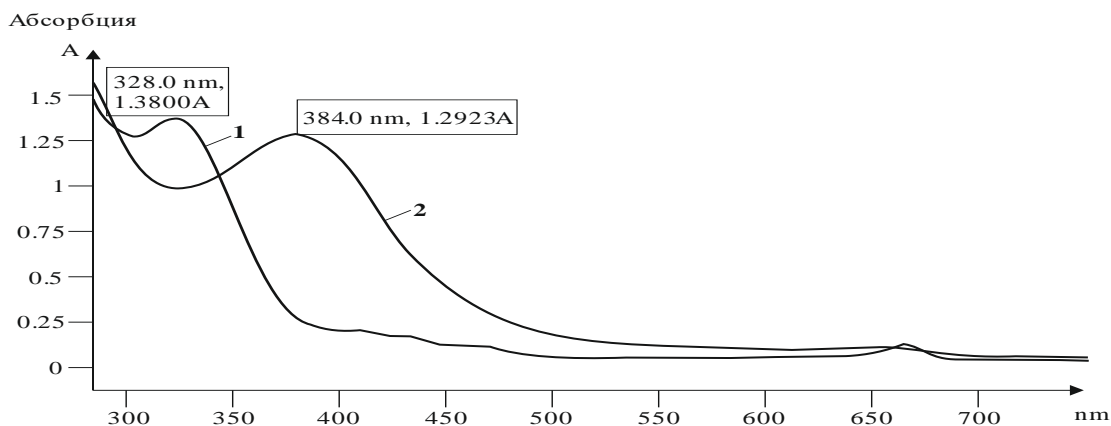


**Рис. 2. Хроматограма кислотного гідролізату (PDA 350.0 nm)**

**Таблиця 2 – Масова частка компонентів гідролізату (PDA 350.0 nm)**

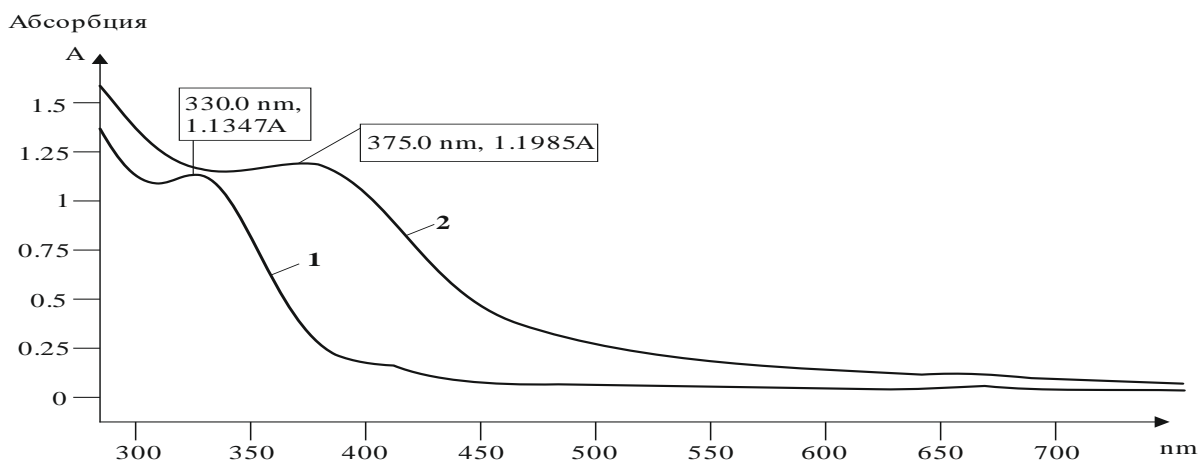
№	Об'єм зразка	Тривалість утримання, хв	Масова частка від суми, %
1	1,00	4,259	12,56
2	1,00	6,321	25,71
3	1,00	7,649	13,26
4	1,00	7,788	19,49
5	1,00	8,488	17,83
6	1,00	8,814	11,14

Аналіз спектрів (рис. 3) поглинання етанольного концентрату свідчить про присутність в ньому великої кількості сполук, що містять рухливий атом водню. Збільшення рН розчину (крива 2) обумовлює значне зміщення максимуму поглинання з 328 до 384 nm.



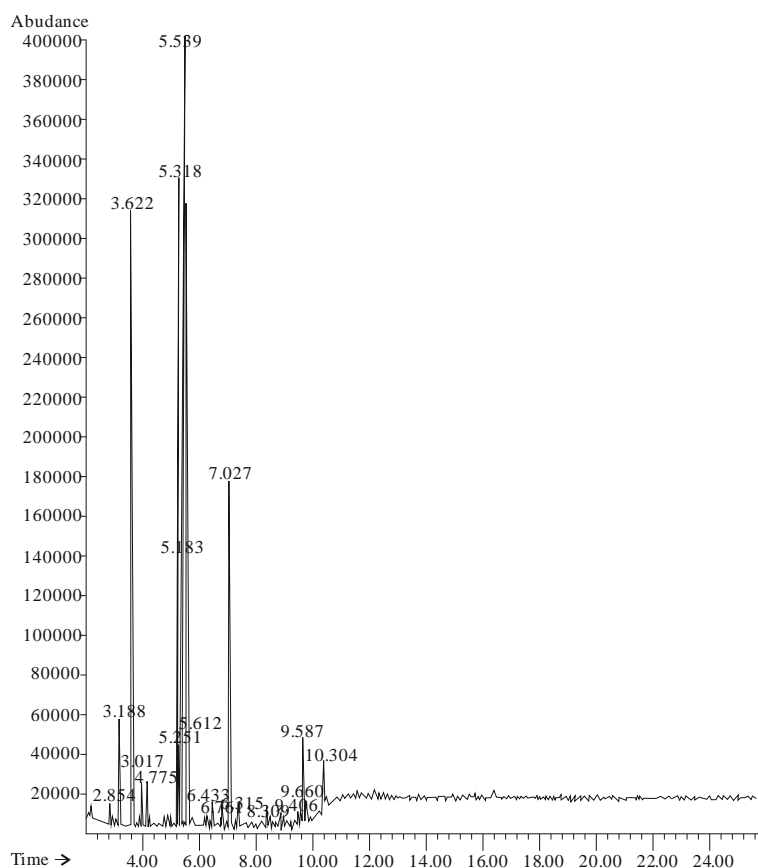
**Рис. 3. Спектри поглинання вихідного етанольного концентрату (1-рН=6,5; 2-рН=11,8)**

Після кислотного гідролізу в спектрах поглинання також мало місце зміщення максимуму (рис. 4). Однак, на відміну від вихідного зразку, в даному випадку відсутня точка перетину кривих, що вказує на руйнування деяких сполук при підвищенні рН розчину.



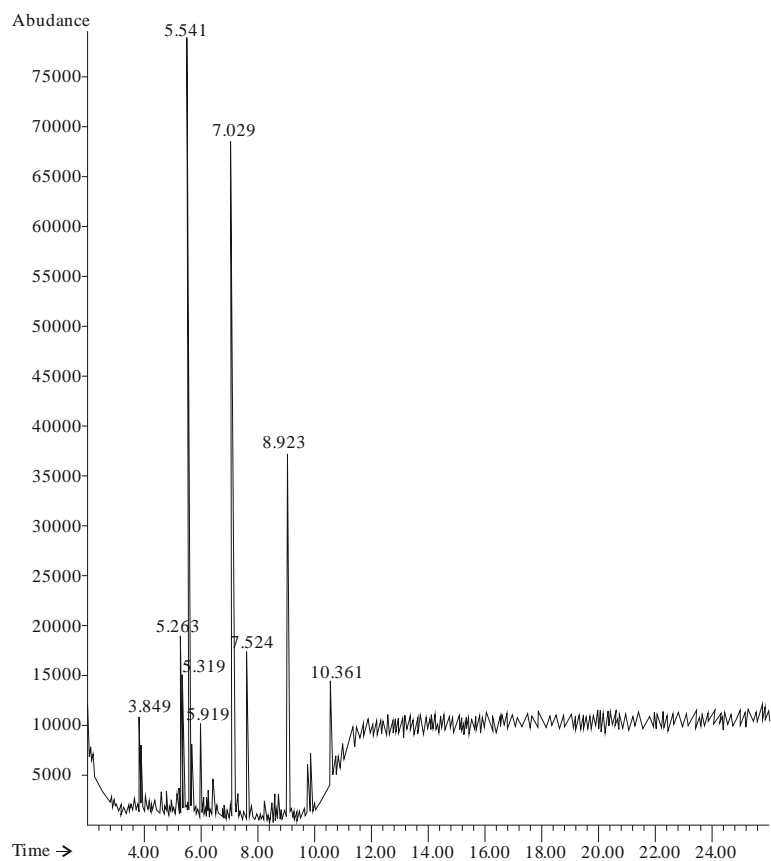
**Рис. 4. Спектри поглинання кислотного гідролізату (1-рН=6,5; 2-рН=11,8)**

Аналіз результатів масс-хроматограми вихідного зразку дав можливість ідентифікувати наступні сполуки (рис.5): альфа-туйон, вініламілкарбінол, о-кумол, альфа-терпінолін, метиловий ефір тиміну, карвакрол, тимол, d-гермакрин, амідолейнова кислота, третбутилкатехол.



**Рис. 5. Масс-хроматограма вихідного етанольного концентрату**

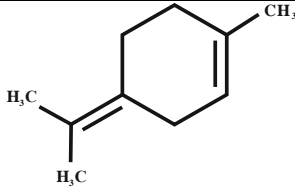
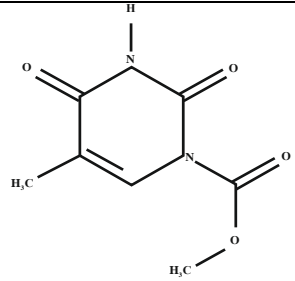
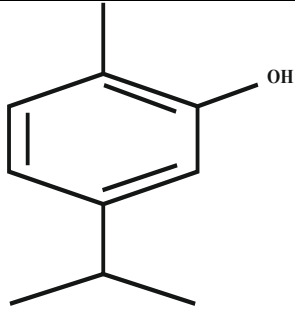
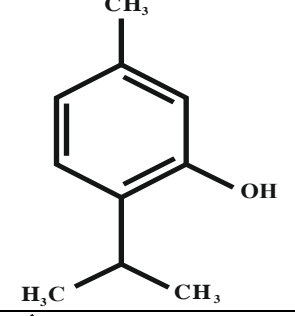
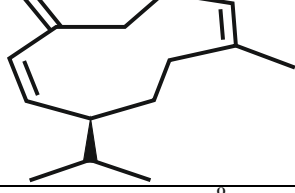
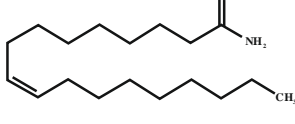
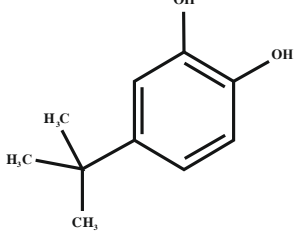
Після кислотного гідролізу низка летких сполук не була виявлена (рис.6), але з'явилися сполуки, які були зв'язані гідроксилвмісними сполуками (флавоноїди, фенолкарбонові кислоти), в першу чергу етиловий ефір левулінової кислоти, етилпальмітат, тимол (табл. 3).

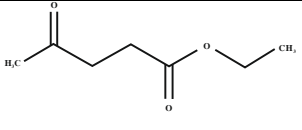
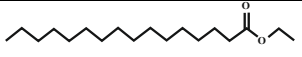


**Рис. 6. Масс-хроматограма кислотного гідролізату**

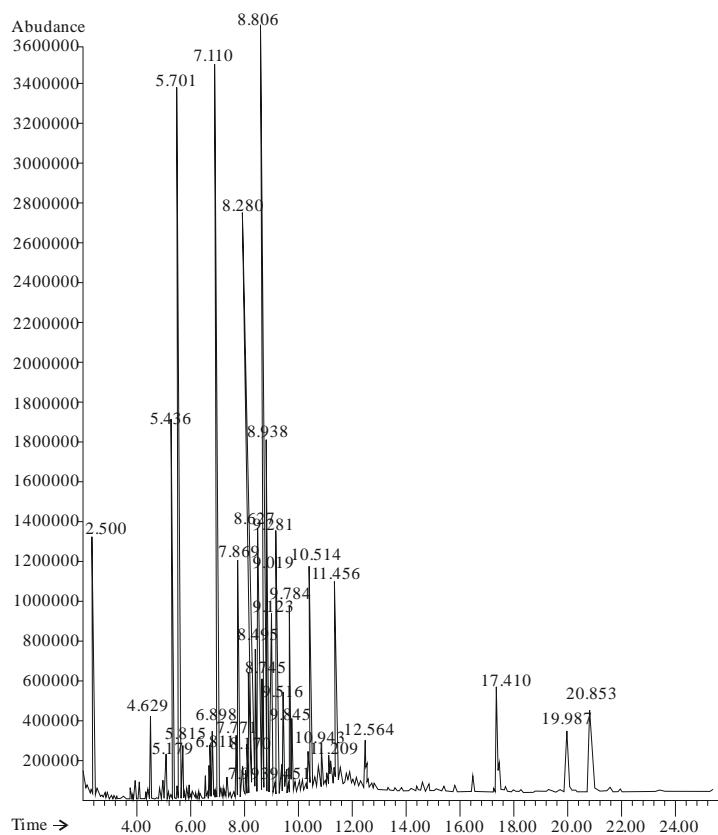
**Таблиця 3 – Сполуки, виявлені в екстракті листя монарди методом мас-хроматографії**

№	Назва сполуки	Хімічна формула	Структурна формула	Властивості
1	Альфа-туйон	$C_{10}H_{16}O$		Ароматична речовина, з характерним запахом, що нагадує ментол. Є однією із двох стереоізомерних форм туйону.
2	о-кумол	$C_6H_5CH(CH_3)_2$		Органічна сполука ряду ароматичних вуглеводнів.

3	<b>Альфа-терпінолін</b>	$C_{10}H_{16}$		Ароматична речовина, що має солодкуватий хвойний аромат та антисептичну дію.
4	<b>Метилловий ефір тиміну</b>	$C_5H_6N_2O_2$		Входить до складу дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК).
5	<b>Карвакрол</b>	$C_{10}H_{14}O$		Має бактерицидні і інсектицидні властивості: уповільнює розвиток деяких бактерій, таких як <i>Escherichia coli</i> або <i>Bacillus cereus</i> .
6	<b>Тимол</b>	$C_{10}H_{14}O$		Ізомер карвакролу з ароматом ментолу. Має сильні антимікробні властивості, застосовують як антисептичний засіб та в якості консерванту.
7	<b>d-гермакрин</b>	$C_{15}H_{24}$		Має антимікробні та інсектицидні властивості.
8	<b>Амідолеїнова кислота</b>	$C_{18}H_{35}NO$		Амід олеїнової кислоти.
9	<b>Третбутилкатехол</b>	$C_{10}H_{14}O_2$		Має антиоксидантні властивості.

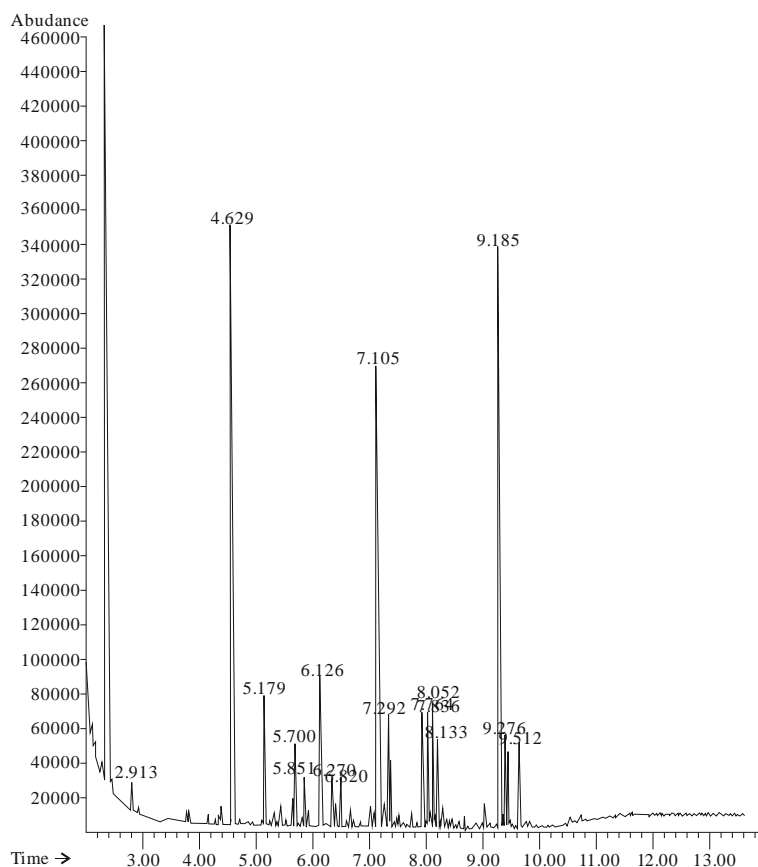
10	<b>Етиловий ефір левулінової кислоти</b>	$C_7H_{13}O_3$		Ефір левулінової кислоти, є консервантом, має антисептичні властивості.
11	<b>Етилпальмітат</b>	$C_{18}H_{36}O_2$		Етиловий ефір пальмітинової кислоти.

Кількість ідентифікованих сполук суттєво зросла після TMS дериватизації (рис. 7). Після TMS дериватизації встановили наявність у зразку: бета-гідроксимасляної кислоти, гліцерину, еритритолу, l-проліну, третбутилгідрохінону, ксилітолу, арабітолу. Виявлено значну кількість вуглеводів: арабінофуранозу, фруктозу, d-глюкозу, цукрозу, d-манітол, альфа-l-галактофуранозу, арабінозу. Знайдено фенолкарбонову кислоту (кавову), а також низку жирних кислот: пальмітинову, альфа-ліноленову, стеаринову, ейкозанову, лауринову.



**Рис. 7. Масс-хроматограма TMS дериватів вихідного етанольного концентрату**

В складі TMS дериватів після кислотного гідролізу (рис.8) ідентифіковано: бета-гідроксимасяну кислоту, метиловий ефір орнітину, тимол, третбутилгідрохінон, етиловий ефір лимонної кислоти, 3-(3,4-дигідроксифеніл) лактонову кислоту, ефір катехоллактату, кавову кислоту. Третбутилгідрохінон застосовується в якості антиокислювача, належить до групи фенольних антиоксидантів, зупиняє процес окислення на ранніх стадіях. Кавова кислота є ненасиченою карбоною кислотою, яка має імуномодулюючу і протизапальну активність, а також є антиоксидантом.



**Рис. 8. Масс-хроматограма TMS дериватів кислотного гідролізату**

**Висновки.** За результатами досліджень хімічного складу фенольних сполук, які містяться у листі монарди двійчастої (*Monarda didyma*), методами ультрашвидкісної високоефективної рідинної хроматографії, спектроскопії, газової хроматографії з масс-селективним детектуванням ідентифіковані фенольні сполуки, проаналізований їх хімічний склад.

Доведено високий антиоксидантний потенціал сировини, завдяки наявності фенолкарбонових кислот, зокрема кавової, флавоноїдів, третбутилкатехолу, третбутилгідрохінону та її потенційні бактерицидні властивості завдяки вмісту тимолу, карвакролу, d-гермакрину, альфа-терпіноліну. Встановлено склад ароматичних речовин та інших складових монарди двійчастої.

За результатами досліджень рекомендовано використання пряно-ароматичної рослинної сировини у технологіях борошняних кондитерських виробів, як ефективного природного антиоксиданта, консерванта, ароматизатора.

#### **Використана література:**

1. Кораблева О.А. Монарда в декоративном садоводстве / О.А. Кораблева, М.В. Рысь // Биологический вестник. – Харьков. – 2006. – Т.10. – №2. – С.6–8.
2. Свиденко Л. Интродукция *Monarda fistulosa* L. в Херсонській області / Л. Свиденко // Вісник Львів УН-ТУ. – 2004. – № 36. – С. 319–324.
3. Работягов В. Д. Интродукция и селекция эфирномасличных растений в Никитском ботаническом саду / Работягов В.Д., Хлыпенко Л.А., Машанов В.И. и др. // Бюл. ГБС, М.: Наука. – 2003. – Вып. 186. – С.10–14.
4. Mazza G. Monarda: A source of geraniol, linalool, thymol and carvacrol-rich essential oils / G. Mazza, F. Kiehn, H. Marshall // In: J.Janick and J.Simon (eds.), New crops. Wiley. – New York. – 1993. – P. 628–631.

5. Singhurst J.R. *Monarda luteola* (Lamiaceae): a new species from Northeast Texas and Southwest Arkansas / J.R. Singhurst // *Phytoneuron*. – 2011. – № 41. – С. 1–5.
6. Floden A. A new beebalm *Monarda austroappalachiana* (Lamiaceae L.) from the Southern Appalachians / A. Floden // *Phytoneuron*. – 2015. – № 28. – С. 3–12.
7. Савицкене Н. *Monarda didyma* – лекарственное и декоративное растение. Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными растительными ресурсами и создания функциональных продуктов / Н. Савицкене // Матер. 1-й Российской научно-прак. конф. – Москва. – 2001. – С.249–250.
8. Корчашкина Н.В. Содержание эфирного масла в сырье *Monarda didyma* L., *Monarda fistulosa* L. и *Monarda media* L. в условиях Московской области / Н. В. Корчашкина, Е.Л. Маланкина // Матер. междунар. научно-прак. конф. посвященной 10-летию образования Ботанического сада Белгородского государственного университета. «Ботанические сады в 21 веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения». – Белгород. – 2009. – С. 443–444.
9. Перспективы выращивания монарды лимонной в качестве лекарственного и эфирно-масличного растения в условиях Московской области / Маланкина Е.Л., Корчашкина Н.В., Терехин А.А. и др. // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты переработки нетрадиционных культур. Сборник научных трудов. – Москва. – 2003. – Вып. 7. – С. 233–238.
10. Рысь М. В. Морфологическая характеристика новых сортообразцов монарды / М. В. Рысь // Матер. симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – Москва. – 2007. – С. 249–251.

11. Flavonoidų analizė raudonosios monardos (*Monarda didyma* L.) žieduose ir lapuose / Savickienė N., Dagilytė A., Barsteigienė Z. ir kt. // *MEDICINA*. – 2002. – T. 38. – Nr. 11. – P. 1119–1122.
12. Zhan-guo L. Chemical Composition of Antibacterial Activity of Essential Oil from *Monarda citriodora* Flowers / L. Zhan-guo, L. Xiu-hui, L. Wei // *Advanced Materials Research*. – 2011. – Vol. – 183–185. – P. 920–924.
13. Bioassay-Guided Investigation of Two *Monarda* Essential Oils as Repellents of Yellow Fever Mosquito *Aedes aegypti* / Tabanca N., Bernier U., Ali A. et al. // *Agricultural and Food chemistry*. – 2013. – № 61. – P. 8573–8580.