

STUDIUL UNOR FLAVONOIDE ÎN ACTIVITĂȚI DE CERCETARE CENTRATE PE STUDENT

STUDY OF SAME FLAVONOIDES IN RESEARCH ACTIVITIES FOCUSED ON STUDENT

Lidia CALMUȚCHI, dr., conf. int.

Eugenia MELENTIEV, dr., conf. univ.

Galina CLIMENTI, masterand

Catedra Chimie, Universitatea de Stat din Tiraspol

Rezumat. Înrautățirea stării ecologice conduce la creșterea riscului dezvoltării stresului oxidativ, acumularea radicalilor liberi care dau naștere la diferite stări patologice în organism. Pentru cercetare au fost alese unele plante medicinale și varietăți de ceai datorită prezenței de substanțe biologic active cu proprietăți antioxidante. Determinarea spectrofotometrică a capacității antioxidante a flavonoidelelor din materialul vegetal propus poate fi aplicată în cercetarea și aprecierea calității produselor alimentare.

Abstract. The general deterioration of ecological conditions has increased the risk of oxidizing stress progress, accumulation of free radicals leading to various pathological conditions in the organism. The choice of medicinal plants and tea variants as study object is due to the fact that these plants are widely used as medicines due to the rich content of biologically active substances with antioxidant properties. The proposed method for determining the antioxidant activity can be used to study the quality of food.

Cuvinte-cheie: flavonoide, ecologie, competență, antioxidant, calitate.

Key-words: flavonoids, ecology, competence, antioxidant, quality.

Introducere

Paradigmele schimbărilor marcate de tendința Uniunii Europene de a unifica demersurile educaționale de a crea Spațiul European al Învățământului Superior durabil, oferă posibilități educației din Republica Moldova să renoveze pregătirea inițială a cadrelor didactice prin remodelarea, revizuirea, reevaluarea critică a componentelor curriculare de autoinstruire, autodezvoltare, reflexie, formare și dezvoltare a competențelor de învățare pe tot parcursul vieții.

Programul curricular universitar la chimie face primii pași în promovarea *conceptului educațional centrat pe student, în care activitățile de cunoaștere și cercetare constituie o preocupare majoră, prioritară, legată de calitatea predării-învățării* [1].

Învățământul centrat pe student își ia începutul pentru prima dată în lucrările lui F.M. Hayward din anul 1905. Ulterior, conceptul a fost dezvoltat de John Dewey, W. Kilpatrick, C. Rogers, care a fost asociat apoi cu extinderea acestei abordări într-o teorie a educației în anul 1950. Mai târziu în 2005, procesul de la Bologna furnizează oportunitatea în inițierea unui învățământ centrat pe student prin: **identificarea rolurilor profesorului și a studentului**; stabilirea mecanismului de învățământ și evaluare a schimbărilor propuse în educație și instruire.

Principiile de bază ale Învățământului Centrat pe Student pot fi rezumate în:

- *Încrederea în învățare activă mai degrabă decât în învățare pasivă;*
- *Accent pe învățare profundă și înțelegere;*

- *Responsabilitate personală și profesională crescută din partea studentului;*
- *Un simț crescut de autonomie în cel ce învață;*
- *Interdependența între profesor și student;*
- *O abordare reflexivă a procesului de predare-învățare.*

Scopul unui Învățământ Centrat pe Student este de a schimba rolul studentului în procesul predare-învățare, din receptor de informație în participant activ, ca partener al cadrului didactic, în realizarea activităților instructiv-educative și în conturarea propriului traseu academic.

Pentru redirecționarea procesului de învățământ pe unul centrat pe student sunt utile toate metodele activ-parcicipative deja cunoscute: proiecte de cercetare, învățare prin colaborare, lucrul în grupuri, perechi, individual, conferințe științifico-practice.

Proiectul de cercetare este una din metodele inovaționale moderne, metodă activ-parcicipativă care oferă posibilități tuturor studenților de a se manifesta în multiple domenii de cercetare. Este necesar de menționat din start că proiectele de cercetare au specificul lor, îndeplinesc atât rolul de formare a competențelor cât și rolul de evaluare în baza produsului finit obținut în urma cercetării.

Proiectele de cercetare în studierea chimiei, asigură realizarea unui Învățământ Centrat pe Student prin anumite priorități:

- *oferă libertate în studierea proceselor și fenomenelor chimice din mediul ambiant ca un tot întreg;*
- *prevăd formarea competențelor în aspect interdisciplinar;*
- *nucleul integrativ în studierea problemelor ecologice se bazează pe ideile moderne ale informatizării, tehnologizării, computerizării, diferențierii, optimizării, continuității, umanizării, individualizării, etc;*
- *formează un stil integrativ de gândire și conștiință ecologică pentru cunoașterea integră a lumii înconjurătoare din punct de vedere filosofic și integrarea proceselor chimice, ecologice din punct de vedere științific;*
- *proiectul integrativ îndeplinește funcția de cunoaștere, cercetere prin activitățile practice prevăzute, cât și funcția de evaluare, autoevaluare.*

Cadrul didactic își asumă rolul de îndrumător al studentului în domeniul de activități, iar studentul trebuie să acționeze, să-și mobilizeze forțele intelectuale, să manifeste preocupare pentru cunoaștere, cercetere, să propună soluții, să formuleze opinii, ipoteze, să argumenteze, să comunice și să coopereze cu colegii și cu cadrele didactice.

Temele proiectelor de cercetare în cadrul studierii chimiei ecologice sunt foarte variate, dețin atât de aria curriculară cât și extracurriculară și sunt stabilite la dorința studenților. Inițial se stabilesc conținuturile teoretice și conținuturile practice care urmează a fi cercetate pe parcursul realizării proiectului.

Experimental

În continuare prezentăm proiectul de cercetare “**Aprecierea capacității antioxidante a flavonoidelor ca substanțe biologice active din vegetale**”.

Scopul cercetării: Cunoașterea cu unele flavonoide ca substanțe biologice active, importante care sunt localizate în produsele vegetale, evaluarea conținutului și a capacității antioxidante (Tab. 1).

Tabel 1. Conținuturi teoretice și practice pentru realizarea proiectului de cercetare.

Conținuturi teoretice	Conținuturi practice
<ul style="list-style-type: none">• Flavonoidele-compuși fenolici aromatici;• Răspândirea, localizarea flavonoidelor în vegetale;• Factorii care influențează acumularea flavonoidelor;• Rolul biologic al flavonoidelor pentru plante;• Formele active ale oxigenului (radicalii liberi) în organismul uman;• Rolul biologic al flavonoidelor ca antioxidanți în organismul uman.	<ul style="list-style-type: none">• Metode și tehnici de cercetare a flavonoidelor;• Determinarea conținutului integral de flavonoide în vegetale;• Reacții catalitice pentru studierea flavonoidelor, cercetarea indicilor organoleptici;• Valorificarea și aprecierea capacității antioxidante (C.A.) a flavonoidelor prezente în unele produse vegetale.

Se menționează că *flavonoidele sunt acei compuși vegetali care colorează plantele în nuanțe vii și intense*, cuprind marea majoritate a tonalităților de albastru, violet sau verde smarald, regăsite în frunze, flori, rădăcini și îndeosebi în fructe.

Flavonoidele rezultă în urma metabolismului secundar al plantelor și sunt cei mai des întâlniți compuși fenolici prezenți în dieta umană.

Flavonoidele din plante:

- Sunt implicate în reținerea radiației UV, fixarea azotului simbiotic, pigmentarea florală;
- Acționează ca mesageri chimici, regulatori fiziologici și inhibitori ai ciclului celular;
- Unele flavonoide au activitate inhibitorie împotriva organismelor care provoacă boli ale plantelor, de exemplu *Fusarium oxysporum* și altele [3].

Structura chimică a flavonoidelor sunt alcătuite din două inele benzenice, unite cu un lanț format din 3 atomi de carbon de tipul C₆-C₃-C₆ (Fig. 1).

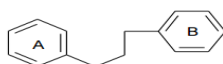


Figura 1. Fragment structural al 2-fenil cromen-4-onei.

Flavonoidele sunt reprezentate de *catehine*, *flavone*, *flavanoli*, *flavanone*, *antocianide*, *lecoantocianidine*, *glicoisoflavanone*, *dihidroisoflavanone*, *isoflavone*, *halcone*, etc.

În vegetale se găsește un număr mare de flavonoide, însă cele mai des întâlnite, studiate de noi sunt expuse în Fig. 2.

- *Gălbenele*, *Calendula officinalis* – (izoramnetina, rutenoizida, quercetina, hiperozida, glicozide);
- *Romanița/mușețel*, *Matricaria recutita* – (luteolina, quercetin, kaempferol, alighenin);
- *Pojarnița/sunătoare*, *Hyperiam reformatum* – (rutina, quercetin, astelibiu);
- *Siminoc*, *Holichrysum arenarium* – (naringhina, apigenina);
- *Ceai* – (apigenina, quercetin, luteolina, catehine, *epi*-catehine).

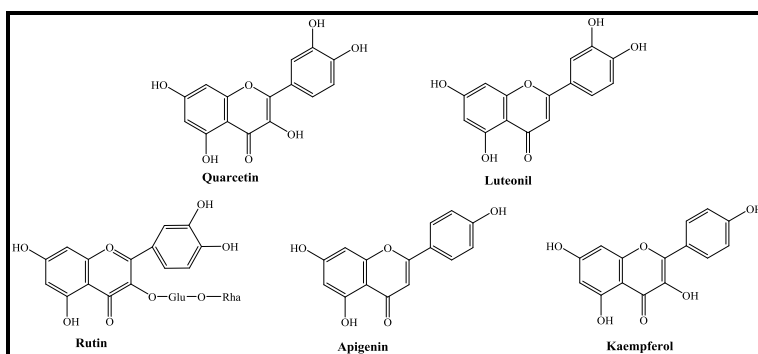
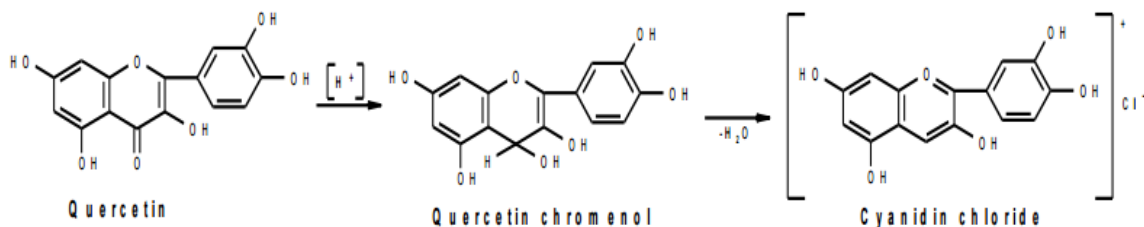


Figura 2. Formule structurale ale unor flavonoide din produsele vegetale studiate.

Reacții calitative comune pentru identificarea tuturor flavonoidelor nu sunt, însă pentru unele din ele sunt exprimate conform:

- **Reducerea flavonoidelor** (proba *Sinoda*) – constă în reducerea grupei carbonil în prezența Mg (sau Zn) și a HCl conc. și formarea antocianidelor (semnalul reacției este apariția culorii roșii) în conformitate cu Schema 1.

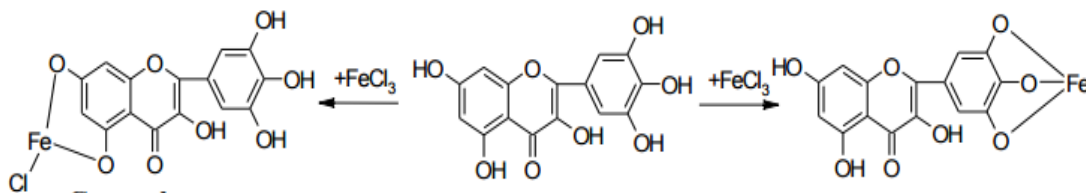


Schema 1. Ecuația reacției de identificare *Sinoda*.

- **Identificarea prezenței glicozidelor și agliconilor (proba Briant).**

În probele de cercetare se adaugă octanol. Apariția culorii în ambele faze demonstrează prezența ambelor flavonoide, în faza lichidă - apariția culorii demonstrează prezența glicozidelor, iar dacă culoarea este prezentă în faza organică – sunt prezenți numai agliconii. Această reacție este folosită pentru identificarea calității plantelor medicinale.

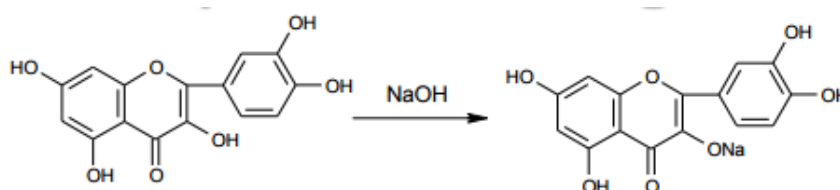
- **Reacția cu sărurile de Fe(III)** – conduce la apariția culorii albastru închis pentru flavonoidele trihidroxilice și în verde pentru cele dihidroxilice (compuși complecși) conform Schemei 2.



Schema 2. Ecuatia reacției de identificare *Briant* (Fe^{3+}).

- **Reacția cu soluția alcoolică de NaOH (10%).**

Este specific pentru flavoni, flavanoli, flavanone care se dizolvă ușor în NaOH formând fenolați de culoare galbenă, halcanii dau culoarea roșie, antocianidele – de la albastru până la verde în conformitate cu Schema 3.



Schema 3. Ecuatia reacției de identificare *Briant* (OH^-).

- **Reacția cu reactivul Wilson** (0,5 g acid boric + 0,5 g acid citric în metanol).

Flavonoidele dau culoare galbenă cu acidul boric care nu dispare în prezență de acid citric (Fig. 3).

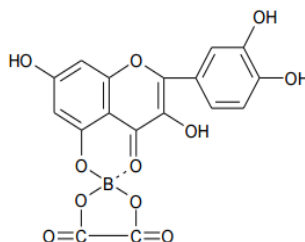


Figura 3. Proba *Wilson*.

- **Reacția cu soluție de acetat de plumb (1%).**

Antocianidele formează precipitat amorf de culoare albastră.

Flavonii, halcanii și auronii formează precipitat de culoare galbenă.

Conținutul integral de flavonoide din produsele vegetale cercetate a fost determinat conform respectării anumitor etape care constau în mărunțirea probelor, uscarea, cântărirea și extracția flavonoidelor cu ajutorul soluțiilor alcoolice, cercetării densității optice a soluțiilor obținute după care urmează efectuarea calculului conținutului integral al flavonoidelor din proba dată, care este specific și individual pentru fiecare produs vegetal aparte.

Capacitatea antioxidantă (CA) a produsului vegetal este asigurată de prezența reducătorilor de natură organica cum ar fi compușii fenolici (flavonoidele). Principiul determinării CA se axează pe acțiunea reducătorilor din produsul vegetal cercetat

asupra sistemului indicator Fe(III) – o-fenantrolina prin care Fe(III) se reduce până la Fe(II) care formează un compus complex stabil cu o-fenantrolina.

În calitate de **substanță standard servește acidul ascorbic** deoarece această substanță **ocupă un loc intermediar între reducătorii de natură fenolică și nefenolică.**

Pentru determinarea capacității antioxidante a produsului vegetal cercetat este necesar mai întâi de a construi graficul de calibrare. Graficul de calibrare se construiește conform dependenței dintre densitățile optice și conținutul acidului ascorbic (A.A.). Capacitatea antioxidantă poate fi măsurată folosind fotocalorimetrul cât și spectrofotometrul la $\lambda = 490$ nm. Valoarea CA se exprimă în mg AA/g. Probele din produsele vegetale pentru a fi cercetate se supun extracției apoase în prezența reagentului complex cu o-fenantrolina prin adăugarea soluției de NaF (0,5 M) pentru stabilizare și diluare cu apă distilată. Calculul CA se efectuează conform relației:

$$CA = \frac{m_{AA} \cdot V_{sol}}{m_{pr} \cdot V_{pr}}, \text{ mgAA/g}$$

unde: m_{AA} – conținutul acidului ascorbic din graficul de calibrare, mg;

V_{sol} – volumul extractului, cm^3 ;

m_{pr} – masa probei produsului vegetal luată pentru cercetare, g;

V_{pr} – volumul probei introduse în reacție, cm^3 .

Extracțiile de flavanoide au fost studiate spectrofotometric. Rezultatele obținute sunt incluse în Tab. 2 și Fig. 4.

Tabel 2. Conținutul integral al flavonoidelor în produsele cercetate și capacitatea lor antioxidantă

Produs vegetal cercetat	Conținutul de flavonoide, mg	Densitatea optică	Conținutul de acid ascorbic, mg	Capacitatea antioxidantă, mgAA/g
Gălbenele	65	3,6	8,5	28,3
Mușețel	20	1,11	2,2	7,33
Pojarnița	47	2,557	6,42	21,43
Seminoc	60	3,0	7,73	25,76
Urzica	16	0,179	0,42	1,4
Minta	13	0,139	0,33	1,1
Ceai verde	37	7,38	17,5	58,33
Ceai negru	32	4,96	14,4	51

Studiul sistemului Fe(III) / Fe(II)-o-fenantrolină pentru identificarea și determinarea capacității antioxidante este unul potrivit, adecvat pentru aprecierea antioxidantă a flavonoidelor din produsele vegetale și produsele alimentare.

Rezultate și discuții

Aprecierea spectrofotometrică a compușilor fenolici a extractelor din plante medicinale constată un conținut major de flavonoide în gălbenele, pojarniță și cantități minime în mintă și urzică. Spectrele optice a unor extracte din produsul vegetal sunt redată în Fig. 3.

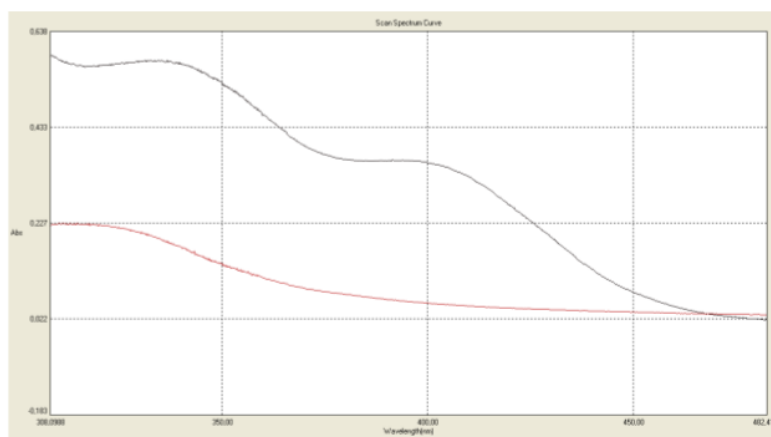


Figura 3. Spectre optice a unor extracte de flavonoide din produse vegetale.

Studiile efectuate în medicină recent, demonstrează proprietățile flavonoidelor ca antioxidanți în lupta cu radicalii liberi, cu acțiune hepatoprotectoare, protecție cardiovasculară, epidermică, acțiune antitumorală, contribuie la diminuarea riscurilor de boli de cancer, infarct miocardic, alergii respiratorii și cutanate, ș.a.. Asupra CA influențează toți compușii fenolici de aceea se poate spune mai mult de CA totală.

Concluzii

Astfel, se menționează că organizarea procesului de cercetare în condițiile unui învățământ centrat pe student, alături de student și cadrul didactic, un rol deosebit de important revine instituției de învățământ superior, prin asigurarea unor condiții optime pentru desfășurarea procesului de învățământ ce includ dotări cu material, resurse, programe, servicii și reglementări adecvate.

Bibliografie:

1. Esu E. I. Student – centred Learnin. An Insight into Theory and Practice. Bruxelles. 2010, p. 28.
2. Leong L. An investigation of antioxidant capacity of fruits. *Food Chem.* 2002 vol. 76. p. 10.
3. Косинок В., Потапович Ф. Био-радикалы и био-антиоксиданты. Минск БГУ. 2004. p. 32.
4. Яшин Я. Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и их влияние на здоровье и старение человека OZON.ru. 2009. <http://www.interlab.ru/wp-content/uploads/2015/09/Prirodnye-antioksidanty.pdf>
5. Шарова Е. Антиоксиданты растений. СПВ.ГУ. 2016, p. 47, 54, 119.