

УДК 664.8.014/.019

**Н.В. Макарова, А.В. Зюзина****ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПО МЕТОДУ DPPH  
ПОЛУФАБРИКАТОВ ПРОИЗВОДСТВА СОКОВ**

В статье представлены экспериментальные данные по определению общего фенольного индекса с помощью реактива Folin-Ciocalteu в полуфабрикатах сокового производства: концентратах (черничном, ежевичном, черносмородиновом, виноградном, клюквенном, брусничном, малиновом, вишневом, клубничном), пюре (яблочном, абрикосовом, персиковом) и апельсиновых (WESOS, замороженном, асептического консервирования) и их антирадикальной активности по статическому и динамическому методу с реактивом DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом).

Концентраты соков, пюре фруктов, общий фенольный индекс, антиоксидантная активность, DPPH.

**Введение**

Высокоактивные молекулы в виде свободных радикалов вызывают разрушение тканей, вступая во взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами, ДНК и белками. Свободные радикалы возникают эндогенно при обычных реакциях обмена веществ или экзогенно, например, как компоненты табакокурения или от загрязнения окружающей среды, токсинов и радиации. Свободные радикалы способствуют возникновению многих заболеваний. Во всех жизнеспособных клетках существуют защитные механизмы против разрушающего действия свободных радикалов, снижающие риск возникновения атеросклероза, рака, сахарного диабета, артритов, ревматизма и других болезней. Степень повреждения тканей зависит от соотношения между накоплением свободных радикалов и количеством защитных антиоксидантов [1]. Многочисленные исследования убедительно показали прямую зависимость устойчивости человеческого организма к сердечно-сосудистым и канцерогенным заболеваниям от уровня потребления пищевых продуктов, богатых антиоксидантами. Пищевые продукты, такие как яйца, молочные продукты, мясо, продукты, обжаренные в растительном масле, также подвергаются окислению и нуждаются в антиокислительной защите. К числу наиболее изученных антиоксидантов относятся фенольные флавоноиды, ликопен, каротиноиды, витамины, ингибиторы протеаз и другие.

Целью работы является выбор полуфабрикатов производства соков (концентратов соков, плодовых пюре) с наивысшими значениями по антиоксидантной активности и содержанию фенольных веществ.

**Объекты и методы исследований**

В качестве объектов исследования выбраны полуфабрикаты сокового производства: концентрированные соки и пюре фруктов. Сами свежевыжатые соки достаточно часто служат объектом исследования антиоксидантной активности. Вместе с тем коммерческие соки и их полуфабрикаты исследуются очень редко. Доля свежевыжатых соков в объеме продаж незначительна. Из литературы [2] известно, что уро-

вень антиоксидантной активности определяется многими факторами. Одним из них является природа исходных плодов и ягод. Исходя из этого для исследования были взяты концентраты (асептического консервирования) различных ягод: черная смородина, виноград красный, малина, ежевика, клубника, вишня, черника, клюква, брусника и пюре: яблочное, персиковое, абрикосовое. Вторым фактором, влияющим на антиоксидантную способность, является технология получения концентратов. С целью выявления зависимости: условия технологической обработки – антиоксидантная способность исследованы апельсиновые концентраты различной технологической обработки: концентрат WESOS (по данным производителя, обогащен плодовой мякотью), замороженный и асептического консервирования.

Определение содержания фенольных веществ, или, как его еще называют, общего фенольного индекса, является одним из основных анализов при исследовании антиоксидантной активности [3]. Основной методикой для определения фенольных веществ во фруктовых соках и напитках является спектрофотометрический метод с реактивом Folin-Ciocalteu [4]. Фенолы легко окисляются в основной среде с образованием радикала  $O_2^-$ , который реагирует с молибдатом с образованием оксида молибдена  $MoO^{4+}$ , имеющего максимум поглощения при 700–750 нм [3]. Для исследований нами также выбран этот метод. Из анализируемого сырья были получены водно-этанольные экстракты при различных соотношениях сырье : 50%-ный этанол как 1:10. Экстракт смешивают с реактивом Folin-Ciocalteu, насыщенным раствором карбоната натрия в соотношении 1:1:2 и в конечной смеси измеряют коэффициент поглощения при 725 нм на приборе КФК-03-01.

Антоцианы являются основными красящими веществами плодов и ягод [5], также ответственными за определенный уровень антиоксидантной способности. Но любая обработка плодов: термическая, замораживание, действие окислителей изменяет уровень антоцианов [6]. Поэтому важно было определить содержание антоцианов в концентратах соков с точки зрения их вклада в антиокислительную

способность и возможности сохранения при получении концентратов соков. Содержание антоцианов определялось в водно-спиртовых экстрактах полуфабрикатов спектрофотометрическим методом в смесях экстракт и буфер в соотношении 1:3 с рН 1,0 и 4,5 при длине волны 515 и 700 нм. Результаты измерений были пересчитаны на содержание цианидин-3-гликозида и представлены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание антоцианов в полуфабрикатах производства соков

Полуфабрикат	Содержание антоцианов, мг цианидин-3-гликозида/100 г исходного продукта
Ежевичный концентрат (асептического консервирования)	17,7
Концентрат черной смородины (асептического консервирования)	11,7
Концентрат красного винограда (асептического консервирования)	44,3
Вишневый концентрат (асептического консервирования)	16,9
Малиновый концентрат (асептического консервирования)	Не обнаружено
Клубничный концентрат (асептического консервирования)	12,9
Черничный концентрат (асептического консервирования)	71,8
Клюквенный концентрат (асептического консервирования)	17,7
Брусничный концентрат (асептического консервирования)	6,2

Исследование способности улавливать свободные стабильные радикалы по радикалу DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) является одним из старейших методов исследования антиоксидантной активности [3, 7]. Этот метод широко использовался как для оценки индивидуальных фенольных веществ, так и для пищевых систем в целом. По мнению авторов обзора [2], этот метод является более избирательным, чем используемый в настоящее время ABTS тест, или, как его называют, ТЕАС протокол с радикалом 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоната). Существуют две версии этого испытания: статическая и динамическая. Нами были ис-

пользованы обе эти методики. Изучение DPPH теста проводилось спектрофотометрическим методом со спиртовым раствором радикала DPPH концентрацией 38 моль при длине волны 517 нм. В результате статических испытаний измерения были проведены через 30 мин и построены кривые зависимости % ингибирования радикалов DPPH от концентрации исходного антиоксиданта, представленные на рис. 4–6.

Повторность опытов трех- и пятикратная, обработку экспериментальных данных проводили методами математической статистики.

### Результаты и их обсуждение

Результаты определений общего содержания фенольных веществ приведены на рис. 1–3. На основании данных по содержанию фенольных веществ можно выделить в каждой подгруппе полуфабрикатов наименования с очень высокими показателями. В концентратах асептического консервирования соков (см. рис. 1) это (в мг галловой кислоты на 100 г вещества): черничный (1118), ежевичный (896), черносмородиновый (912). К сырью со средними показателями относятся клюквенный (736), брусничный (742), вишневый (762), клубничный (832) концентраты. Низкими показателями по общему фенольному индексу обладают виноградный (570) и малиновый (138) концентраты.

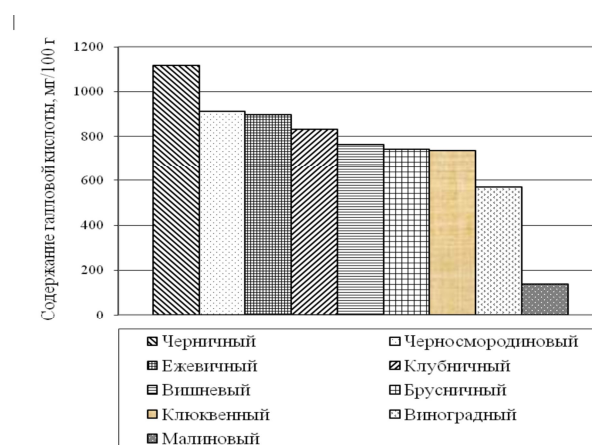


Рис. 1. Содержание фенольных веществ в концентратах соков

Из трех анализируемых нами пюре (рис. 2) яблочное (544) обладает максимальным содержанием фенольных веществ (в мг галловой кислоты на 100 г вещества), персиковое (200) – наименьшим, а абрикосовое (314) занимает промежуточное положение.

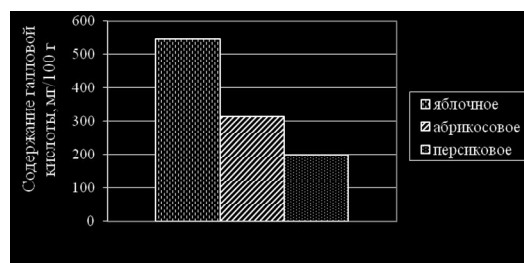


Рис. 2. Содержание фенольных веществ в пюре

На основании исследований содержания фенольных веществ в апельсиновых концентратах (рис. 3) можно сделать выводы о влиянии технологии получения на сохранение содержания фенольных веществ. Апельсиновый концентрат WESOS получен по технологии, включающей обогащение концентрата экстрактивными веществами из кожуры апельсинов. Тогда как из литературы [5] известно, что экстрактивные вещества кожуры яблок по антирадикальной активности (методы TBARS, DPPH) превышают экстрактивные вещества мякоти. И именно апельсиновый концентрат WESOS имеет фенольные вещества на уровне 960. Технология концентрирования апельсиновых соков вымораживанием считается более совершенной, чем выпаривание. Это полностью совпадает с нашими экспериментальными данными по определению общего фенольного индекса: апельсиновый замороженный концентрат имеет 480, а асептического консервирования – 352. Если сравнить эти данные с показателями фенольного индекса для концентратов соков (см. рис. 1), то согласно работам английских ученых [6] клюквенный сок имеет более высокие показатели по фенольным соединениям, чем апельсиновый, что справедливо и для изученных нами концентратов.

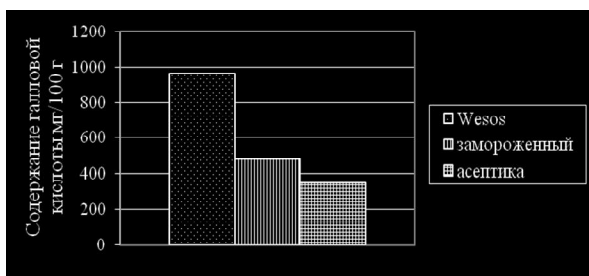


Рис. 3. Содержание фенольных веществ в апельсиновых концентратах

Несмотря на то что все концентраты соков обладают ярким цветом, уровень антоцианов у них очень разный. Черничный и виноградный концентраты обладают наивысшими значениями, а для остальных концентратов этот показатель в 2–10 раз ниже.

Концентраты ежевичный, черной смородины, черничный имеют наивысшую антиоксидантную способность (рис. 4).

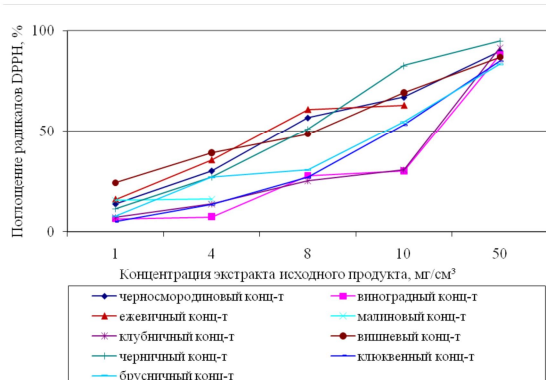


Рис. 4. Данные по определению антирадикальной активности концентратов соков (статический метод)

Одним из основных показателей, характеризующих антирадикальную активность по методу DPPH,

является  $E_{C50}$  – концентрация экстракта антиоксиданта, при которой наблюдается 50%-ное ингибирование радикалов DPPH [8, 9]. Этот показатель для всех полуфабрикатов сведен в табл. 2.

Таблица 2

Показатели антирадикальной активности по методу DPPH

Наименование полуфабриката	$E_{C50}$ , мг/см <sup>3</sup>	$\tau_{C50}$ , мин
Концентраты		
Ежевичный	6,5	13
Черносмородиновый	7,0	8
Вишневый	8,0	7
Черничный	8,0	3
Брусничный	9,5	18
Клюквенный	9,5	15
Клубничный	14,0	Не достигает
Виноградный	33,0	Не достигает
Малиновый	640,0	Не достигает
Пюре		
Яблочное	32,5	3
Абрикосовое	50,0	8
Персиковое	180,0	Не достигает
Апельсиновые		
WESOS	33,0	9
Замороженный	45,0	15
Асептика	60,0	Не достигает

Яблочное пюре (рис. 5) также проявляет высокую способность к поглощению свободных радикалов.

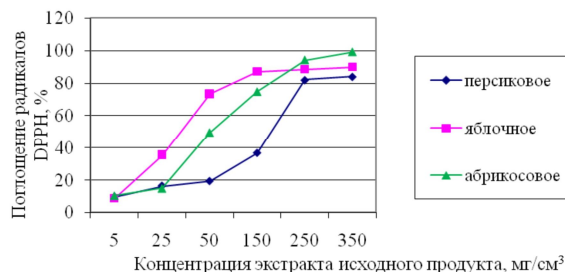


Рис. 5. Данные по антирадикальной активности для пюре (статический метод)

На основании данных рис. 6 можно выбрать апельсиновый концентрат WESOS как обладающий наивысшей антирадикальной активностью и имеющий минимальный показатель  $E_{C50}$  из всех апельсиновых концентратов, хотя при концентрации 500 мг/см<sup>3</sup> апельсиновые концентраты имеют другой порядок расположения. Однако в большинстве литературных источников именно показатель  $E_{C50}$  является основным.

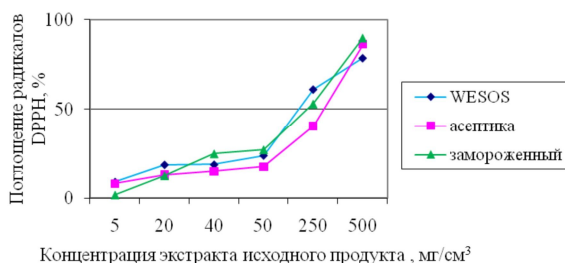


Рис. 6. Данные по антирадикальной активности апельсиновых концентратов (статический метод)

Кривые зависимости % ингибирования радикалов DPPH от времени были построены в результате динамического изучения процесса ингибирования радикалов DPPH в течение 120 мин и представлены на рис. 7–9. Кривые были построены для разных значений исходных экстрактов полуфабрикатов: для концентратов соков при концентрации  $10 \text{ мг/см}^3$ , для пюре при  $30 \text{ мг/см}^3$ , для апельсиновых концентратов при  $50 \text{ мг/см}^3$ .

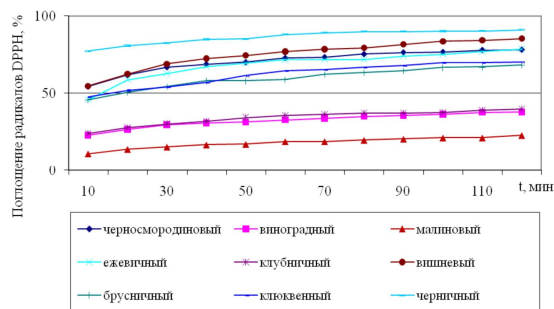


Рис. 7. Данные по антирадикальной активности соковых концентратов (динамический метод)

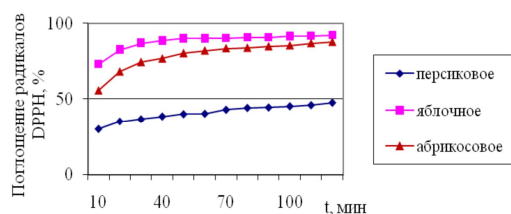


Рис. 8. Данные по антирадикальной активности пюре (динамический метод)

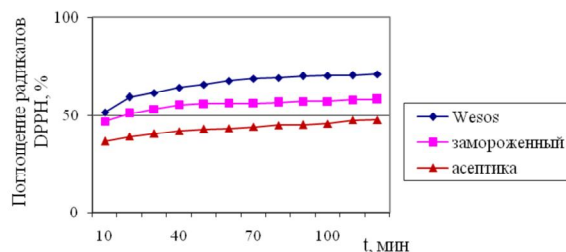


Рис. 9. Данные по антирадикальной активности апельсиновых концентратов (динамический метод)

Динамические кривые антирадикального действия по методу DPPH [10] позволяют наглядно определить наиболее перспективные концентраты (черничный, вишневый, черная смородина, ежевика, см. рис. 7), пюре (яблочное, см. рис. 8) и апельсиновый концентрат WESOS (см. рис. 9). На основании данных рис. 7–9 можно подсчитать такой показатель, как  $\tau_{c50}$  – время, необходимое для поглощения 50 % радикалов DPPH (см. табл. 2). В каждой группе полуфабрикатов можно выделить своего лидера: среди концентратов – черничный (3 мин), среди пюре – яблочное (3 мин) и апельсиновый концентрат WESOS (9 мин). Некоторые полуфабрикаты за выбранный промежуток времени 120 мин не достигают 50%-го ингибирования радикала DPPH.

Если сравнить результаты по определению общего фенольного индекса, антоцианов и антирадикальной способности, то абсолютные лидеры по первым двум показателям проявляют и лучшую способность улавливать радикалы.

Полученные нами экспериментальные данные являются крайне важными, так как из всего многообразия полуфабрикатов сокового производства позволяют выбрать те, на основе которых могут быть составлены рецептуры соков и сокосодержащих напитков с наивысшим антиоксидантным действием.

#### Список литературы

1. Hensley K., Floyd R.A. Methods in pharmacology and toxicology: methods in biological oxidative stress. Totowa: Humana Press, 2003. 215 p.
2. Balasundram, N. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses / N. Balasundram, K. Sundram, S. Samman // Food Chem. – 2006. – Vol. 99. – № 1. – P. 191–203.
3. Roginsky, V. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food / V. Roginsky, E. Lissi // Food Chem. – 2005. – Vol. 92. – № 2. – P. 235–254.
4. Wijngaard, H.H. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants / H.H. Wijngaard, C. Royle, N. Brunton // Food Chemistry. – 2009. – Vol. 116. – № 1. – P. 202–207.
5. D'Abrosca, B. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoids contents and antioxidant activity / B. D'Abrosca, S. Pacifico, G. Cefarelli, C. Mastellone, A. Fiorentino // Food Chem. – 2007. – Vol. 104. – № 4. – P. 1333–1337.
6. Mullen, W. Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks / W. Mullen, S.C. Marks, A. Crozier // J. Agric. and Food Chem. – 2007. – Vol. 55. – № 8. – P. 3148–3157.
7. Hager, T.J. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products / T.J. Hager, L.R. Howard, R.L. Prior // J. Agric. and Food Chem. – 2008. – Vol. 56. – № 3. – P. 689–695.
8. Ozkan, M. Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide / M. Ozkan, A. Yemenicioğlu, B. Cemeroglu // Food Res. Int. – 2005. – Vol. 38. – № 8–9. – P. 1015–1021.
9. Becker, E.M. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects / E.M. Becker, L.R. Nissen, L.H. Skibsted // Eur. Food Res. and Technol. – 2004. – Vol. 219. – № 6. – P. 561–571.
10. Scherer, R. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method / R. Scherer, H.T. Godoy // Food Chem. – 2009. – Vol. 112. – № 3. – P. 654–658.

ГОУ ВПО «Самарский государственный  
технический университет»,  
443100, Россия, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244.  
Тел./факс: (846) 332-20-69  
e-mail: fpp@samgtu.ru

## **SUMMARY**

**N.V. Makarova, A.V. Zyuzina**

### **Investigation of antioxidant activity of juice production semis with DPPH method**

The data on the total phenolic index assay with the Folin-Ciocalteu reagent in juice production semis: juice concentrates (bilberry, blackberry, black-current, grape, cranberry, cowberry, raspberry, cherry, strawberry), puree (apple, apricot, peach) and orange concentrates (WESOS, frozen, aseptic) as well as their antiradical activity with static and dynamic method with DPPH reagent (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) are shown in the article.

Juice concentrate, fruite puree, total phenolic index, antioxidant activity, DPPH.

Samara State Technical University  
244, Molodogvardeyskaya st., Samara, 443100, Russia  
Phone/Fax: (846) 332-20-69  
e-mail: fpp@samgtu.ru