

ВЛИЯНИЕ ИСПОЛЬЗУЕМОГО РАСТВОРИТЕЛЯ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ВИШНИ

Н.Б. Еремеева*, Н.В. Макарова

ФГБОУ ВПО «Самарский государственный
технический университет»,
443100, Россия, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244

*e-mail: rmvnatasha@rambler.ru

Дата поступления в редакцию: 21.10.2015

Дата принятия в печать: 09.11.2015

Антиоксиданты могут послужить фактором, позволяющим уменьшить окислительный стресс окружающей среды, который является последствием действия свободных радикалов, разрушающих клеточную систему организма. В статье рассмотрены и изучены вопросы влияния используемого экстрагента на свойства экстракта. Описаны результаты подбора наиболее оптимального растворителя (50 % водный этиловый спирт, 98 % этиловый спирт, вода, *n*-гексан, бензол, этилацетат, хлороформ) для сортосмеси ягод вишни, как сырья, широко распространенного на территории Самарской области, для получения экстракта, обладающего наибольшей антиоксидантной активностью. Для исследования были получены экстракты при температуре 37 °С в течение 2 часов. В настоящей работе используются различные методы определения уровня антиоксидантной активности: содержание общего количества фенольных соединений эквивалент галловой кислоты, флавоноидов эквивалент катехина, антоцианов эквивалент цианидин-3-гликозида, антирадикальную способность с использованием свободного радикала DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила), восстанавливающую силу по методу FRAP (ferric reducing antioxidant power), антиоксидантная активность в системе линолевая кислота. Значительное число методов оценки антиоксидантной активности соединений систематизировано по способу регистрации параметров, на основе которых определяется антиоксидантная активность, в том числе количественно. Показано, что использование этанола, воды и смеси этиловый спирт-вода приводит к получению экстрактов с хорошими антиоксидантными показателями. Напротив, экстракты, полученные с применением *n*-гексана, бензола, этилацетата и хлороформа, обладают низким уровнем антиоксидантной активности.

Экстракт, вишня, фенолы, флавоноиды, антиоксидантная активность, органические растворители, вода

Введение

Для здорового человека существует равновесие между естественной антиоксидантной системой организма и активной формой кислорода (АФК), который генерируется организмом и экзогенными источниками. Когда равновесие нарушается, АФК может вызывать окислительное повреждение биомолекул различных, в том числе белков, липидов, ДНК и РНК в организме человека, что связано с липидной и белковой перекиссацией, структурным повреждением тканей или генной мутации. Такое окислительное повреждение считается причиной старения, а также ряда дегенеративных заболеваний, таких как болезни сердца, гипертония и рак. Антиоксиданты – это соединения, при добавлении которых в пищевые продукты, особенно липидсодержащие, можно увеличить срок годности за счет замедления процесса перекисного окисления липидов, который является одной из основных причин ухудшения качества пищевых продуктов в процессе переработки и хранения. Синтетические антиоксиданты, такие как бутилированный гидроксианизол (ВНА) и бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), имеют ограниченное применение в пищевых продуктах, так как они предположительно могут оказывать канцерогенное действие [1]. Поэтому огромное значение поиска и разработки природных антиоксидантов, особенно растительного происхождения, значительно возросло в последние годы.

Высокореактивные свободные радикалы, особенно кислородпроизводные, которые образуются при эндогенных метаболических процессах в организме человека, способны окислять биомолекулы, в результате чего происходит гибель клеток и повреждение тканей.

Фенольные соединения, такие как фенольные кислоты и флавоноиды, обладают высокой биологической активностью, в том числе антиоксидантной, антибактериальной, антиаллергической, противовирусной, противовоспалительной и даже антивозрастным эффектом [2]. Природные антиоксиданты, особенно фенолы, флавоноиды, дубильные вещества и антоцианы из растений, являются безопасными. Предполагаемые лечебные эффекты многих традиционных лекарственных средств можно объяснить наличием этих природных антиоксидантов. Поэтому в последние годы значительное внимание уделяется изучению растительных экстрактов с потенциальным антиоксидантным действием.

Очевидно, что ягоды вишни могут являться природным источником фенольных антиоксидантов и противомикробных соединений. Использование экстракта вишни может представлять интерес для пищевой, фармацевтической и косметической промышленности, для которых присутствие природных добавок необходимо для увеличения их антиоксидантных свойств [3]. Некоторые исследования показали, что повышение потребления при-

родных антиоксидантов, таких как флавоноиды и другие фенольные соединения, присутствующие в вишне, могут выступать в качестве мощных агентов в предотвращении заболеваний, связанных с окислительным стрессом, таких как рак, атеросклероз, старение и ревматоидный артрит.

Хорошее извлечение активных природных соединений из растительного сырья зависит от типа растворителя, используемого при экстракции растительного сырья [4]. В литературе отмечено, что использование органических растворителей для экстракции обеспечивает более надежную антибактериальную активность, чем в тех случаях, когда экстракция проводилась водой [3].

Работа L. Majhenic и др. [3] показывает, что при использовании обычного органического растворителя полученные растительные экстракты способствуют значительному росту пищевых отравлений из-за присутствия бактерий порчи, таких как *E. Coli*, *B. Cereus*, *P. Fluorescens*, и грибов порчи, таких как *A. Niger*, *T. Virideand*, *P. Cyclopium*. В работе A. Basile и др. [5] описано, что этанольные экстракты из семян гуараны обладают антиоксидантной активностью и ингибирующей активностью против грамотрицательных и грамположительных бактерий. С другой стороны, описана хорошая антиоксидантная активность для всех экстрактов из растительного сырья.

Изучение антиоксидантной активности экстрактов ягоды вишни, полученных при использовании различных растворителей, представляет большой интерес.

Таким образом, целью работы является выявление зависимости природы используемого растворителя для получения экстракта из вишни, произрастающей на территории Самарской области, который будет использован как компонент в составе рецептур косметических средств в качестве источника антиоксидантов и других ценных и полезных веществ для здоровья человека.

Объекты и методы исследований

Объектом исследования выбрана сортосмесь вишни и 7 различных растворителей (50 % водный этиловый спирт, 98 % этиловый спирт, вода, *n*-гексан, бензол, этилацетат, хлороформ). Выбор растворителей обусловлен, во-первых, тем, что температуры кипения находятся примерно в одном диапазоне, что позволит удалить растворитель при концентрировании получаемого экстракта без деградации получаемых веществ. Во-вторых, растворители обладают различной полярностью, что позволит экстрагировать из ягод вишни различные по структуре соединения.

По полярности растворители можно распределить следующим образом: *n*-гексан < бензол < хлороформ < этанол < этилацетат < вода.

Для исследования антиоксидантной активности ягод был получен экстракт при температуре 37 °С в течение 2 часов. Для анализируемых объектов определен химический состав (общее содержание фенолов, флавоноидов, антоцианов) и уровень антиоксидантной активности.

Результаты и их обсуждение

Общее содержание фенолов в экстрактах вишни определено с помощью колориметрической окислительно-восстановительной реакции при 725 нм. В качестве окислительного агента был использован реактив Фолина-Чиокалтеу [6]. Результаты выражали в мг галловой кислоты на 100 г исходного сырья по калибровочной кривой. Как видно из табл. 1, наибольшей экстрагирующей способностью фенолов для вишни обладает 50 % этиловый спирт (547 мг/100 г). Также неплохими показателями обладают этанол (445 мг/100 г) и вода (338 мг/100 г). В случае *n*-гексана фенолы в экстракте обнаружены не были.

Как и фенольные соединения, флавоноиды принимают участие в окислительно-восстановительных процессах, происходящих в растениях [7]. Определение содержания флавоноидов показало (см. табл. 1), что наилучшими растворителями являются 98 % этанол (176 мг/100 г) и этилацетат (142 мг/100 г). Наличие флавоноидов для экстракта хлороформа обнаружено не было. Результаты выражали в мг катехина на 100 г исходного сырья по калибровочной кривой.

Содержание антоцианов проанализировано на основе метода кислотного гидролиза, влияющего на цвет исследуемого раствора. Лидером при определении общего содержания антоцианов, как и для фенолов, является 50 % водный раствор спирта (99,95 мг/100 г), незначительно отстает вода – 93,85 мг/100 г. Однако для экстракта этилового спирта содержание антоцианов в экстракте находится на уровне с экстрактом *n*-гексана – 29,92 и 25,41 мг/100 г соответственно. В экстрактах бензола и хлороформа антоцианы обнаружены не были, что видно из табл. 1. Результаты выражали в мг цианидин-3-гликозида на 100 г исходного сырья по калибровочной кривой.

Таблица 1

Общее содержание фенолов, флавоноидов и антоцианов в экстрактах ягод вишни

| Растворитель | Общее содержание фенолов, мг галловой кислоты/100 г исходного сырья | Общее содержание флавоноидов, мг катехина/100 г исходного сырья | Общее содержание антоцианов, мг цианидин-3-гликозида/100 г исходного сырья |
|-------------------|---|---|--|
| Этанол/Вода (1:1) | 547 | 97 | 99,95 |
| Этанол | 445 | 176 | 29,92 |
| Вода | 338 | 56 | 93,85 |
| <i>n</i> -Гексан | Не обнаружено | 84 | 25,41 |
| Бензол | 27 | 17 | Не обнаружено |
| Этилацетат | 141 | 142 | 38,61 |
| Хлороформ | 24 | Не обнаружено | Не обнаружено |

Метод FRAP (ferric reducing antioxidant power) основан на реакции восстановления комплекса Fe (III) 1,2,4-трипиридил-*s*-триазина [8]. Водно-спиртовой экстракт проявил наибольшую восстанавливающую силу (11,88 ммоль Fe²⁺/1 кг). Спиртовой (9,72 ммоль Fe²⁺/1 кг) и водный (7,83 ммоль Fe²⁺/1 кг) экстракты также проявили неплохие показатели. Не проявляют никакую восстанавливающую силу экстракты *n*-гексана, бензола, этилацетата (см. табл. 2).

Линоленовая кислота быстро разрушается под действием света, кислорода, температуры, присутствия ионов металла [9]. Природные антиоксиданты способны ингибировать процесс окисления ненасыщенных кислот. Таким образом, можно определить антиоксидантную активность в системе линолевая кислота. Как видно из табл. 2, наибольшей ингибирующей силой в системе линолевая кислота обладает водный (36,6 %) и спиртовой раствор (23,9 %). Для *n*-гексанового, бензольного, этилацетатного и хлороформного экстракта ингибирующая сила окисления линолевой кислоты не была обнаружена (см. табл. 2).

Для определения антирадикальной активности экстрактов вишни применялся метод DPPH [10]. Этот метод основан на способности DPPH-радикала (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила) вступать во взаимодействие с активными компонентами экстракта из-за водород-донорной способности, в том числе с фенольными соединениями. DPPH – стабильный свободный радикал, который принимает электрон или радикал водорода, чтобы стать стабильной молекулой. Снижение концентрации радикала DPPH определяется снижением абсорбции при его максимуме поглощения при 517 нм, которая вызвана взаимодействием с антиоксидантом. Это визуализируется в виде изменения цвета от фиолетового до желтого. По методу DPPH наибольшей антиоксидантной активностью (см. табл. 2) обладает смесь этанол/вода (1:1) – 22 E_{c50}, мг/см³. Также неплохие показатели обнаружены для этанольного (51 E_{c50}, мг/см³) и водного экстрактов (49 E_{c50},

мг/см³), в то время как для всех гидрофобных растворителей (*n*-гексана, бензола, этилацетата и хлороформа) антиоксидантная активность экстрактов по методу DPPH не была обнаружена.

Таблица 2

Результаты исследования антиоксидантной активности вишни

| Растворитель | FRAP значение, ммоль Fe ²⁺ /1 кг сырья | Антиоксидантная активность в системе линолевая кислота, % ингибирования окисления линолевой кислоты | Антирадикальная активность, E _{c50} , мг/см ³ |
|-------------------|---|---|---|
| Этанол/вода (1:1) | 11,88 | 18,8 | 22 |
| Этанол | 9,72 | 23,9 | 51 |
| Вода | 7,83 | 36,6 | 49 |
| <i>n</i> -Гексан | Не обнаружено | Не обнаружено | Не обнаружено |
| Бензол | Не обнаружено | Не обнаружено | Не обнаружено |
| Этилацетат | Не обнаружено | Не обнаружено | Не обнаружено |
| Хлороформ | 0,36 | Не обнаружено | Не обнаружено |

Таким образом, исходя из полученных результатов логично сделать ряд выводов:

1) для получения экстрактов с высоким содержанием фенолов, флавоноидов, антоцианов, необходимо использовать в качестве растворителя спирт, воду или их смесь;

2) аналогичные результаты получены и для антиоксидантной активности вишни;

3) такие растворители, как *n*-гексан, бензол, этилацетат, хлороформ, являются неприемлемыми для производства экстрактов вишни с высокими показателями антиоксидантной активности.

Список литературы

1. Madhavi, D.L. Toxicological Aspects of Food Antioxidants. / D.L. Madavi, S.S. Deshpande, D. K. Salunkhe. New York: Eds. Dekker, 1995. – 267 p.
2. Liu, J. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays L.*) and related flavone glycosides / J. Liu, C. Wang, Z. Wang, Ch. Zhang, Sh. Lu, J. Liu // Food Chemistry. – 2011. – Vol. 126. – P. 261–269.
3. Majhenic, L. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts / L. Majhenic, M. Skerget, Z. Knez. // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 104. – P. 1258–1268.
4. Parekh, J. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity / J. Parekh, D. Jadeja, S. Chanda // Turkish Journal of Biology. – 2005. – Vol. 29. – P. 203–210.
5. Basile, A. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana Mart* / A. Basile, L. Ferrara, M. Del Pezzo, G. Mele, S. Sorbo, P. Bassi et al. // Journal of Ethnopharmacology. – 2005. – Vol. 102. – P. 32–36.
6. Skerget, M., Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities / M. Skerget, P. Kotnik, M. Hadolin, A. Rizner-Hras, M. Simoncic, Z. Knez // Food Chemistry. – 2005. – Vol. 89. – P. 191–198.
7. Skibola, Ch.F. Potential health impacts of excessive flavonoid intake / Ch.F. Skibola, M.T. Smith // Free Radical Biology & Medicine. – 2000. – Vol. 29. – N. 3/4. – P. 375–383.
8. Chvatalova, K. Influence of dietary phenolic acids on redox status of iron: Ferrous iron autoxidation and ferric iron reduction / K. Chvatalova, I. Slaninova, L. Brezinova, J. Slanina // Food Chemistry. – 2008. – Vol. 106. – P. 650–660.
9. Starzynska-Janiszewska, A. Antioxidant properties of extracts from fermented and cooked seeds of Polish cultivars of *Lathyrus sativus* / A. Starzynska-Janiszewska, B. Stodolak, M. Jamroz // Food Chemistry. – 2008. – Vol. 109. – P. 285–292.
10. Mathew, S. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models / S. Mathew, T.E. Abraham // Food Chem. – 2006. – Vol. 94. – P. 520–528.

THE INFLUENCE OF SOLVENTS ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CHERRY EXTRACTS

N.B. Ereemeeva*, N.V. Makarova

Samara State Technical University,
244, Molodogvardeyskaya Str., Samara, 4443100, Russia

*e-mail: rmvnatasha@rambler.ru

Received: 21.10.2015

Accepted: 09.11.2015

Antioxidants can serve as a factor reducing the oxidative stress environment caused by free radicals depleting cellular system of the body. The article considers the effect of the extractant used on the extract properties. The selection of the optimal solvent (50% aqueous ethanol, 98% ethyl alcohol, water, n-hexane, benzene, ethyl acetate, chloroform) for mixture cherries as raw material is described, it being widespread in the Samara region for producing an extract having the most active antioxidants. For the study the extracts were obtained at 37 deg. C for 2 hours. In this paper, various methods for determining the antioxidant activity level are used: the content of total amount of phenolic compounds, content of gallic acid, catechin, the content of flavonoids, anthocyanins, cyanidin-3-glycoside, antiradical capacity using free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilgidrazila), the restoring force by the method of FRAP (ferric reducing antioxidant power), antioxidant activity in the linoleic acid. A significant number of methods to assess the antioxidant activity of the compounds are classified quantitatively according to the method of recording the parameters on the basis of which the antioxidant activity is determined. It is shown that the use of ethanol, mixtures of water and alcohol-water extracts results in good antioxidant performance. In contrast, extracts prepared from n-hexane, benzene, ethyl acetate and chloroform, have low antioxidant activity.

Extract, cherry, phenols, flavonoids, antioxidant activity, organic solvents, water

References

1. Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K. *Toxicological Aspects of Food Antioxidants*. New York: Eds. Dekker, 1995. 267 p.
2. Liu J., Wang C., Wang Z., Zhang Ch., Lu Sh., Liu J. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays L.*) and related flavone glycosides. *Food Chemistry*, 2011, vol. 126, pp. 261–269.
3. Majhenic L., Skerget M., Knez Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 2007, vol. 104, pp. 1258–1268.
4. Parekh J., Jadeja D., Chanda S. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turkish Journal of Biology*, 2005, vol. 29, pp. 203–210.
5. Basile A., Ferrara L., Del Pezzo M., Mele G., Sorbo S., Bassi P. et al. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, vol. 102, pp. 32–36.
6. Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Rizner-Hras A., Simonic M., Knez Z. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 2005, vol. 89, pp. 191–198.
7. Skibola Ch.F., Smith M.T. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radical Biology & Medicine*, 2000, vol. 29, no. 3/4, pp. 375–383.
8. Chvatalova K., Slaninova I., Brezinova L., Slanina J. Influence of dietary phenolic acids on redox status of iron: Ferrous iron autoxidation and ferric iron reduction. *Food Chemistry*, 2008, vol. 106, pp. 650–660.
9. Starzynska-Janiszewska A., Stodolak B., Jamroz M. Antioxidant properties of extracts from fermented and cooked seeds of Polish cultivars of *Lathyrus sativus*. *Food Chemistry*, 2008, vol. 109, pp. 285–292.
10. Mathew S., Abraham T.E. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 2006, vol. 94, pp. 520–528.

Дополнительная информация / Additional Information

Еремеева, Н.Б. Влияние используемого растворителя на антиоксидантную активность экстрактов вишни / Н.Б. Еремеева, Н.В. Макарова // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – Т. 39. – № 4. – С. 26–29.

Ereemeeva N.B., Makarova N.V. The influence of solvents on the antioxidant activity of cherry extracts. *Food Processing: Techniques and Technology*, 2015, vol. 39, no. 4, pp. 26–29. (In Russ.)

Еремеева Наталья Борисовна

аспирант кафедры технологии и организации общественного питания, ФГБОУ ВПО «Самарский государственный технический университет», 443100, Россия, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244, тел.: +7 (846) 332-20-69, e-mail: rmvnatasha@rambler.ru

Макарова Надежда Викторовна

д-р хим. наук, профессор, заведующая кафедрой технологии и организации общественного питания, ФГБОУ ВПО «Самарский государственный технический университет», 443100, Россия, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244, тел.: +7 (846) 332-20-69, e-mail: makarovnv1969@yandex.ru

Natalia B. Ereemeeva

Postgraduate Student of the Department of Technology and Organization of Public Catering, Samara State Technical University, 244, Molodogvardeyskaya Str., Samara, 4443100, Russia, phone: +7 (846) 332-20-69, e-mail: rmvnatasha@rambler.ru

Nadezhda V. Makarova

Dr.Sci.(Chem.), Professor, Head of the Department of Technology and Organization of Public Catering, Samara State Technical University, 244, Molodogvardeyskaya Str., Samara, 4443100, Russia, phone: +7 (846) 332-20-69, e-mail makarovnv1969@yandex.ru