

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ / CHEMICAL SCIENCES

Оригинальная статья / Original article

УДК 663.81/.82:547.56.001.5:66.094.38(045)

DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-3-19-26

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БРУСНИЧНОГО СОКА

© Е.А. Быстрова, Е.В. Алексеенко

Московский государственный университет пищевых производств,  
Российская Федерация, 125050, г. Москва, Волоколамское ш., 11.

*Представлены результаты исследований по изучению компонентного состава фенольных соединений брусничного сока, полученного с применением предварительной ферментативной обработки и без использования ферментных препаратов. Исследован профиль флавоноидов. Получены данные качественного и количественного состава антоцианов, катехинов, гидроксикоричных кислот. Показано, что в количественном и качественном отношении комплекс исследуемых фенольных соединений в соке, полученном с использованием ферментных препаратов, богаче и разнообразнее, чем в соке, полученном без применения ферментных препаратов. Установлено, что проведение предварительной ферментативной обработки ягод позволяет увеличить выход в сок: кверцетина и его производных, антоциановых и катехиновых соединений, фенолоксилов в 1,1-2,5 раза. В составе сока, полученного из ферментативно обработанной мякоти ягод, дополнительно идентифицирован мономерный флаван-3-ол - эпигаллокатехин, присутствие которого в соке, полученном без применения ферментных препаратов, выявлено не было. Исследована антиоксидантная активность брусничного сока. Установлено, что антиоксидантная активность брусничного сока, полученного с применением предварительной ферментативной обработки оценивается значительно выше (в 1,4 раза), чем сока, полученного без применения ферментных препаратов. Ключевые слова: ягоды брусники, предварительная ферментативная обработка, брусничный сок, флавоноиды, антоцианы, катехины, фенолоксиловы, антиоксидантная активность.*

**Формат цитирования:** Быстрова Е.А., Алексеенко Е.В. Исследование компонентного состава фенольных соединений и антиоксидантной активности брусничного сока // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7, N 3. С. 19–26. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-3-19-26

## THE RESEARCH COMPONENT COMPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CRANBERRY JUICE

© Е.А. Bystrova, E.V. Alexeenko

Moscow State University of Food Production,  
11, Wolokolamskoe Hgw., Moscow, 125050, Russian Federation

*Presents the results of studies on the component composition of phenolic compounds of cranberry juice, prepared with the use of enzymatic pre-treatment and without the use of enzymatic preparations. The profile of flavonoids has been studied. There is evidence of qualitative and quantitative composition of anthocyanins, catechins, hydroxycinnamic acids. The study shows that the quantity and quality of complex study of phenolic compounds in the juice is produced using enzyme preparations, richer and more varied. The study has established that the conduct of the preliminary enzymatic treatment can increase fruit yield in juice: quercetin and its derivatives, anthocyanin and catechin compounds, phenolic acids in 1.1-2.5 times. The composition of the juice obtained from enzymatically treated berries pulp has additionally identified the monomeric flavan-3-ol-epigallocatechin, which presence in the juice obtained without the use of enzyme preparations has not been identified. The study tested the antioxidant activity of cranberry juice and found that the antioxidant activity of cranberry juice prepared using enzymatic pre-processing is estimated significantly higher (1.4 times) than that of juice obtained without the use of enzyme preparations.*

*Key words: red whortleberry raw material; enzyme pretreatment; red whortleberry juice; flavonoids; anthocyanins; catechins; fenolyc acids; antioxidant capacity*

**For citation:** Bystrova E.A., Alexeenko E.V. The research component composition of phenolic compounds and antioxidant activity of cranberry juice. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotechnologia* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2017, vol. 7, no. 3, pp. 19-26. (in Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-3-19-26

## **ВВЕДЕНИЕ**

Растительный мир обладает уникальной способностью синтезировать разнообразный набор соединений полифенольной природы, среди которых особую значимость представляет семейство флавоноидов. Интерес к той обширной группе фитосоединений с каждым годом возрастает благодаря проявлению ими широкого спектра биологической активности. Семейство флавоноидов исключительно многообразно: флавоны, флавонолы, флаваноны, флаванолы, флаван-3-олы, антоцианидины, халконы, ауроны и др. Отдельные представители флавоноидов проявляют не только фармакологическое действие, но имеют технологически значимые свойства, которые позволяют позиционировать их как натуральные красители, консерванты и антиоксиданты. Ягоды брусники являются ценным источником флавоноидных соединений. Поэтому реализация любых технологий переработки ягод брусники должна быть ориентирована на наиболее полное использование этой важной группы природных соединений в пищевых продуктах.

Цель исследования – изучение компонентного состава фенольных соединений и антиоксидантной активности брусничных соков, полученных с применением предварительной ферментативной обработки и без использования ферментных препаратов.

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

В качестве инструмента, позволяющего повысить экстрактивную способность растительной ткани, при получении сока из ягод брусники использовали их предварительную ферментативную обработку. Для этого применяли композицию ферментных препаратов пектолитического и глюканолитического действия: Рапидаза CR- Laminex BG2 (МЭК).

Множественность флавоноидных соединений обеспечивается существованием различных моделей замещения, образованием гликозидов с сахарами, эфиров и других производных [1]. Многообразие этих веществ предопределяет широкий спектр фармакологического действия. Большой интерес и ценность растительной пищи для здоровья человека, во многом обусловлен содержанием в ней не только витаминов и микроэлементов, но и общеизвестных флавоноидов в том числе, и кверцетина. Высоким содержанием кверцетина отличается и брусника [2].

## **ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Изучен профиль флавоноидных соединений в брусничных соках, полученных с проведением предварительной ферментативной обработки и без использования ферментных препаратов. Исследования проводили с применением ВЭЖХ-масс-спектрометрии [3]. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Как свидетельствуют полученные результаты, в брусничном соке присутствуют кверцетин и, в подавляющих количествах, его гликозиды – *кверцитрин* – 3-рамнозидкверцетина, *авикулярин*- 3-арабинозидкверцетина, *гиперозид*- 3-галактозидкверцетина. На их долю приходится порядка 77% обнаруженных в брусничном соке производных кверцетина (см. табл. 1).

С каждым годом возрастает число выделенных из растений флавоноидных гликозидов, ацилированных по углеводным остаткам. К сожалению, в брусничных соках не удалось идентифицировать обнаруженные в их составе ацилированные гликозиды кверцетина. И в этом направлении, по всей видимости, предстоит еще определенная работа. Но в целом, тенденция прослеживается, и полученные результаты убедительно демонстрируют, что проведение предварительной ферментативной обработки ягод при получении сока способствует существенному увеличению выхода в сок флавоноидных компонентов (в 1,1–1,6 раза) (см. табл. 1).

Относительно немногочисленную группу флавоноидных соединений составляют антоцианидины. В растительном мире они присутствуют в виде разнообразных гликозидов, обуславливая богатейшую гамму окраски цветов, плодов и листьев.

Анализ данных хроматографических исследований позволил заключить, что серия антоцианов ягод брусники, произрастающей в средней полосе РФ, построена на основе одного антоцианидина- цианидина, что согласуется с литературными данными [4]. Из числа сахаров, входящих в состав молекулы антоцианов, выявлены глюкоза, галактоза и арабиноза (табл. 2).

Доминирует из антоцианов цианидин-3-галактозид: на его долю приходится порядка 80% обнаруженных антоцианов; затем следует цианидин-3-арабинозид (15 и 15,7%) и завершает количественный ряд цианидин-3-глюкозид (порядка 5%) (см. табл. 2). Причем проведение ферментативной обработки существ-

**Таблица 1**

**Профиль флавоноидов в брусничных соках**

**Table 1**

**Flavonoid profile in cowberry juice**

Наименование	Сок, полученный без применения ферментных препаратов (без ФОЯ),		Сок, полученный с применением МЭК (СФБ), мг/100 г ягод	
	мг/100 мл	мг/100 г ягод	мг/100 мл	мг/100 г ягод
Гиперозид	4,02	2,65	4,72	3,90
Авикулярин	4,54	3,0	5,74	4,76
Кверцитрин	4,90	3,23	4,65	3,86
Неидентифицированный ацилированный гликозид кверцетина	3,11	2,05	2,71	2,25
Неидентифицированный ацилированный гликозид кверцетина	0,32	0,21	0,29	0,24
Кверцетин	0,48	0,32	0,46	0,38
Сумма флавоноидов	17,37	11,46	18,57	15,39

**Таблица 2**

**Состав антоцианов брусничного сока, %**

**Table 2**

**Composition of anthocyanins of cowberry juice, %**

Наименование	Сок, полученный без применения ферментных препаратов (без ФОЯ)	Сок, полученный с применением МЭК (СФБ)
Цианидин-3-галактозид	79,6	80,0
Цианидин 3-глюкозид	5,4	4,3
Цианидин 3-арабинозид	15,0	15,7

**Таблица 3**

**Содержание катехинов и галловой кислоты в брусничном соке**

**Table 3**

**Content of catechines and gallic acid in cowberry juice**

Наименование	Время удерживания	Сок без ФОЯ		СФБ	
		мг/кг	мг/кг ягод	мг/кг	мг/кг ягод
Галловая кислота(1)	8,4	1,71	1,13	1,97	1,64
Эпигаллокатехин(2)	–	–	–	11,28	9,36
Эпикатехин(3)	16,9	67,78	44,73	74,67	62,0
Эпигаллокатехин галлат(4)	23,0	3,94	2,60	7,85	6,52
Галлокатехин галлат(5)	23,5	4,36	2,88	7,08	5,88
Эпикатехин галлат(6)	24,9	2,83	1,87	3,68	3,05
Сумма катехинов	30,2	80,62	53,21	106,53	88,45

венно не сказывается на количественном перераспределении антоциановых компонентов.

Важнейшими среди флавоноидов являются мономерные флаван-3-олы (катехины). В настоящее время к ним проявляется неподдельный интерес и обусловлен он, прежде всего значительным их содержанием в продуктах повседневного употребления, среди которых первенствует чай.

Результаты хроматографических исследований показывают, что катехины брусничного сока и СФБ представлены эпикатехином, обнаружены также эфиры катехинов с галловой кислотой - эпигаллокатехин галлат, галлокатехин галлат, эпикатехин галлат. В составе сока, полученного с применением композиции ферментных препаратов (СФБ) дополнительно идентифицирован эпигаллокатехин, обладаю-

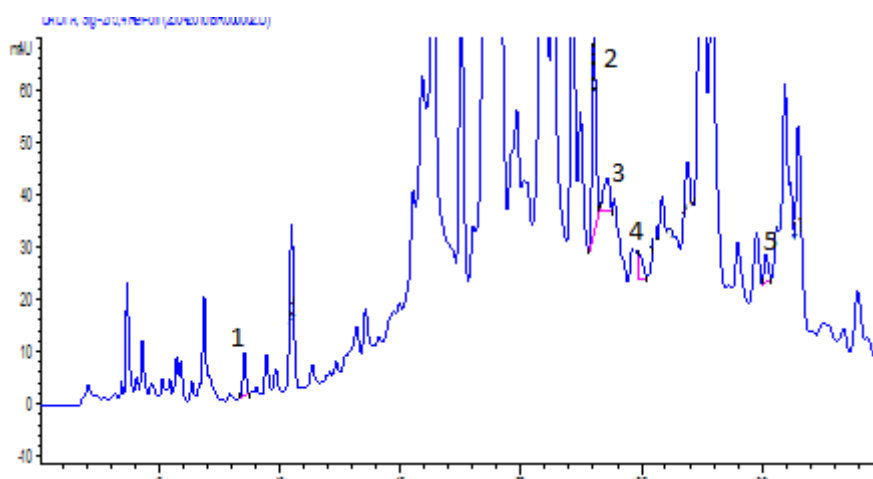
щий высокими антирадикальными свойствами (табл. 3, рис. 1 и 2).

В количественном отношении катехиновый комплекс СФБ выглядит предпочтительнее: отмечается увеличение выхода по всем соединениям катехинов (в 1,4–2,5 раза) (см. табл. 3). Среди катехиновых соединений явно преобладает эпикатехин: 85,8 и 71,4% в соке без ФОЯ и СФБ соответственно. Уменьшение доли эпикатехина среди катехиновых соединений СФБ обусловлено появлением в его составе существенных количеств эпигаллокатехина (10,8%), присутствие которого в соке без ФОЯ выявлено не было. На долю галловых эфиров катехинов - эпигаллокатехин галлата, галлокатехин галлата и эпикатехин галлата приходится 14,2 и 17,8% в соке без ФОЯ и в СФБ соответственно (см. табл. 3).

Особенной фракцией флавоноидных соединений, а точнее сказать, их метаболитов, являются фенольные кислоты: гидроксикоричные и гидроксibenзойные. В бруснике присутствуют представители всех этих кислот.

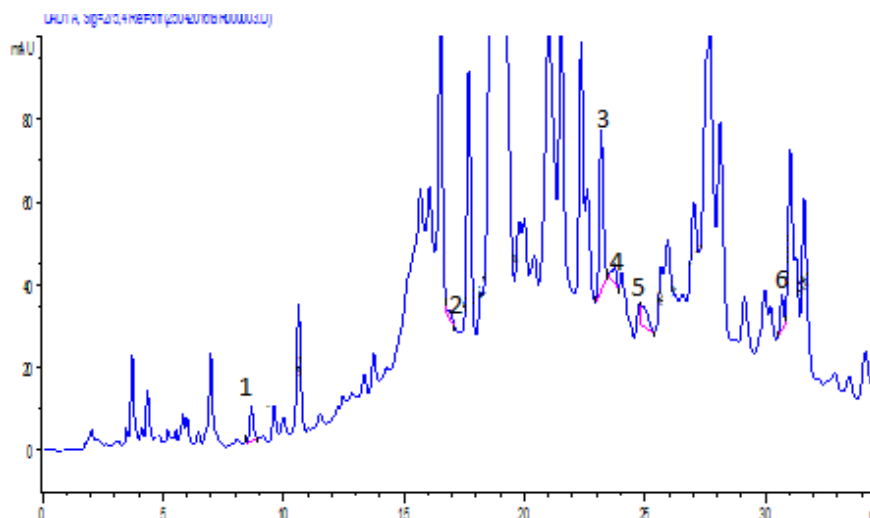
Гидроксикоричные кислоты способствуют формированию адекватного иммунного ответа и поддержанию адаптационного потенциала организма; участвуют в подавлении процессов воспаления, усиливают активность белков, которые должны защищать организм от чужеродных агентов (в т.ч. микроорганизмов), стимулируют поглощение клетками иммунной системы чужеродных частиц, вирусов, бактерий, усиливают выработку интерферонов – мощного противовирусного оружия [5].

Согласно результатам хроматографического исследования в соках обнаружены каф-



**Рис. 1. Хроматограмма катехинов в брусничном соке без ФОЯ**

**Fig. 1. Chromatogram of catechines in cowberry juice obtained without enzyme treatment**



**Рис. 2. Хроматограмма катехинов в СФБ**

**Fig. 2. Chromatogram of catechines in cowberry juice obtained using enzyme treatment**

таровая, хлорогеновая, 4-кофеилхинная, п-кумаровая, феруловая и кофейная кислоты (табл. 4, рис. 3 и 4). Из гидроксibenзойных определяли галловую кислоту (см. табл. 3).

С точки зрения количественной оценки сок, полученный из ферментативно обработанной мякоти ягод, характеризуется более высоким (в 1,1–1,9 раза) содержанием гидроксикоричных и галловой кислот (см. табл. 3 и 4).

Галловая кислота обладает антибактериальным, антивирусным, гипогликемическим, антиоксидантным действием, ускоряет заживление ран и ожогов [5]. Установлено, что в составе соков галловая кислота присутствует в количествах 1,71 и 1,97 мг/кг в соке без ФОЯ и СФБ соответственно (см. табл. 3).

Бесспорным лидером среди гидроксикоричных кислот являются феруловая и хлорогеновая кислоты. На их долю приходится порядка 65% от общего содержания кислот (табл. 4). Выявленные кислоты обладают высокими антиоксидантными свойствами. Установлено, что антиоксидантная активность хлорогеновой кислоты в 27 раз превышает антиоксидантную активность нарингенина (главного флавоноида грейпфрута) [6]. И по антиоксидантной актив-

сти их можно расположить в ряд: кофейная>феруловая>хлорогеновая>>нарингенин [7]. Кофейная кислота содержится в соках в незначительном количестве (4,85 и 5,84 мг/кг в соке без ФОЯ и СФБ соответственно), но ее присутствие будет способствовать повышению антиоксидантной активности соков. Кроме того, для хлорогеновой и кофейной кислот показано гипогликемическое действие [7]. В литературе приводятся данные, что хлорогеновая, кофейная, феруловая кислоты оказывают мягкое гипохолестеринемическое действие, снижают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, желчекаменной болезни [8, 9].

Ключевое свойство флавоноидов – их антиоксидантная активность. Известно, что антиоксиданты склонны к синергизму, который проявляется во взаимном усилении антиоксидантной способности при смешивании нескольких антиоксидантов. Учитывая этот факт, на заключительном этапе исследований проводили определение антиоксидантной активности брусничных соков, полученных с применением предварительной ферментативной обработки и без использования ферментных препаратов.

**Таблица 4**

**Состав и содержание гидроксикоричных кислот в брусничном соке**

**Table 4**

**Composition and content of hydroxycinnamic acids in cowberry juice**

Наименование	Время удерживания	Сок без ФОЯ		СФБ	
		мг/кг	мг/кг ягод	мг/кг	мг/кг ягод
Кафтаровая кислота (1)	–	0,87	0,57	1,64	1,36
Хлорогеновая кислота(2)	14,9	35,17	23,21	38,72	32,14
4-Кофеилхинная кислота(3)	19,2	18,64	12,31	20,04	16,63
Кофейная кислота (4)	19,8	4,85	3,20	5,24	4,35
п-Кумаровая кислота(5)	21,9	15,21	10,04	15,70	13,03
Феруловая кислота(6)	28,0	36,13	23,85	39,34	32,65
Сумма гидроксикоричных	30,9	110,87	73,18	120,68	100,16

**Таблица 5**

**Антиоксидантная активность брусничных соков, в ед. TEAC**

**Table 5**

**Antioxidant activity of cowberry juice, TEAC units**

Наименование	Антиоксидантная активность, мг/100 мл
Сок без ФОЯ	318
СФБ	437

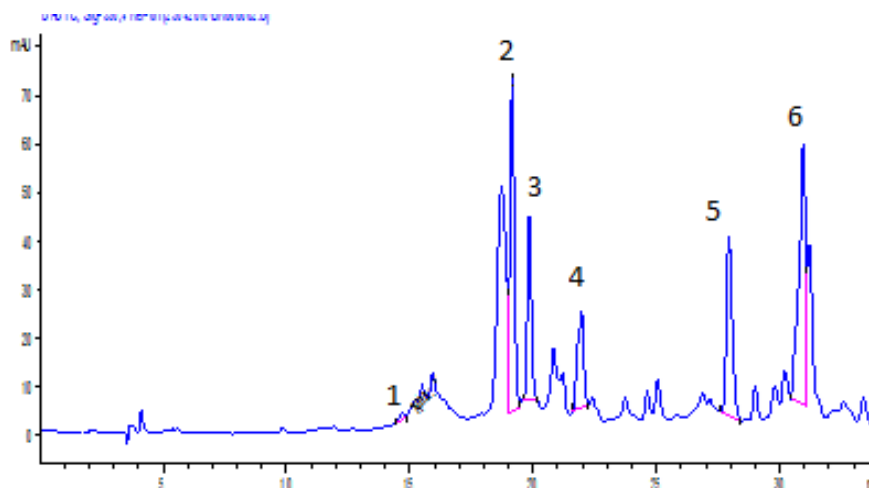


Рис. 3. Хроматограмма гидроксикоричных кислот в соке без ФОЯ

Fig. 3. Chromatogram of hydroxycinnamic acids in cowberry juice obtained without enzyme treatment

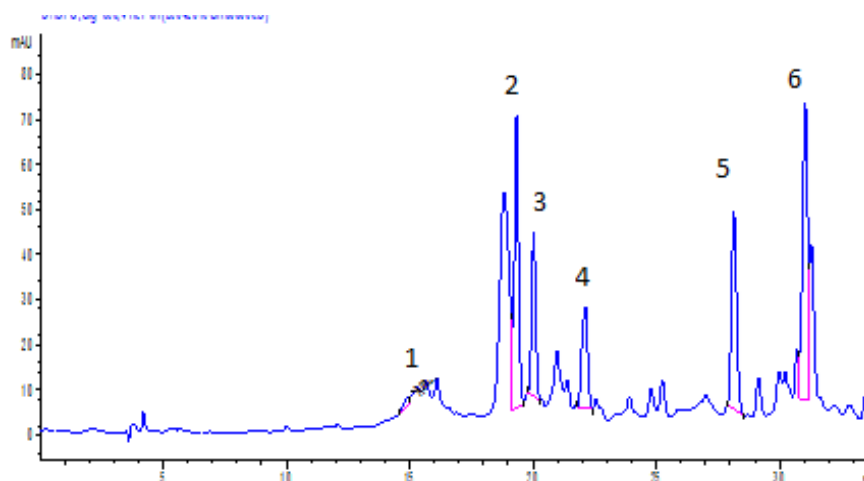


Рис. 4. Хроматограмма гидроксикоричных кислот в СФБ

Fig. 4. Chromatogram of hydroxycinnamic acids in cowberry juice obtained using enzyme treatment

Антиоксидантную активность определяли по отношению к DPPH-радикалу [10]. Полученные результаты представлены в табл. 5, из которых следует, что антиоксидантная активность брусничного сока, полученного с применением предварительной ферментативной обработки, оценивается значительно выше (в 1,4 раза), чем сока, полученного без применения ферментных препаратов.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенной экспериментальной работы исследован каче-

ственный и количественный состав флавоноидных соединений и фенолокислот брусничного сока, полученного с применением предварительной обработки и без использования ферментных препаратов. Данными хроматографических исследований убедительно доказана эффективность применения композиции ферментных препаратов для обработки ягод брусники с позиции выхода в сок различных флавоноидных соединений, что обуславливает проявление им более высоких (в 1,4 раза) антиоксидантных свойств.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тюкавкина Н.А., Зурабян С.Э., Белобородов В.Л. Органическая химия. В 2-х кн. Кн. 2:

Специальный курс // Под ред. Н.А. Тюкавкиной. М.: Дрофа, 2008. 592 с.

2. Изосимова И.В. Научно-практические основы рационального использования ягод брусники (*Vaccinium vitis - idaea* L) и клюквы (*Oxococcus polustris*). Красноярск, 2004. 27 с.

3. Жогова А.А. Идентификация и количественное определение основных биологически активных веществ травы пустырника с помощью ВЭЖХ-масс-спектрометрии // Химико-фармацевтический журнал. 2014. Т. 48, N 7. С. 54–59.

4. Шобингер У. Фруктовые и овощные соки: научные основы и технологии / Пер. с нем. под общим науч. ред. А.Ю. Колеснова, Н.Ф. Берестеня и А.В. Орещенко. СПб: Профессия, 2004. 640 с.

5. Тутельян В.А., Лашнева Н.В. Биологически активные вещества растительного происхождения. Фенольные кислоты: распространённость, пищевые источники, биодоступность // Вопросы питания. 2008. Т. 77, N 1. С. 4–19.

1. Tyukavkina N.A., Zurabyan S.E., Beloborodov V.L. Organicheskaya khimiya: uchebnik dlya vuzov: V 2-kn. Kn.2: Spetsial'nyi kurs [Organic chemistry: textbook for high schools: In 2 books. Book 2: Special Course]. Under the editorship of N.A. Tyukavkina. Moscow: Drofa Publ., 2008, 592 p.

2. Izosimova I.V. *Nauchno-prakticheskie osnovy ratsional'nogo isoil'zovaniya yagod brusniki (Vaccinium vitis - idaea L) i klyukvy (Oxococcus polustris)* [Scientific and practical bases of rational use berries lingonberry (*Vaccinium vitis - idaea* L) and cranberries (*Oxococcus polustris*). Krasnoyarsk, 2004, 27 p.

3. Zhogova A.A., Perova I.B., Samylina I.A. [et al.] Identification and quantification of the main active ingredients grass Leonurus by HPLC-mass spectrometry. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* [Pharmaceutical Chemistry Journal]. 2014, vol. 48, no. 7, pp. 54–59. (in Russian)

4. Shobinger U. *Fruit and vegetable juices: the scientific bases and technologies*. (Russ. Ed.: *Fruktovye i ovoshchnye soki: nauchnye osnovy i tekhnologii*. St. Petersburg: Professiya Publ., 2004, 640 p.)

5. Tutel'yan V.A., Lashneva N.V., Biologically active substances of plant origin. Phenolic acids:

6. Un J.J. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in dB / db mice // *J. of Pharmacol and Exper. Therapeutics*. 2006. V. 318, N 2. P. 476–483.

7. NaKatani N. Identification, quantitative determination and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunes domestica* L). // *J. Agric. Food Chem*. 2000. V. 48. P. 5512–5516.

8. Левицкий А.П. Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология // *Микробиология и биотехнология*. 2010. N 2. С. 6–20.

9. Leitzmann M.F., Stampfer M.J., Willet W.C., et al. Coffee cutake is associated with lower risk of symptomatic gallstone disease in women // *Gastroenterology*. 2002. V. 123, N 6. P. 1823–1830.

10. Bondet V. Determination of antioxidative activities of berries // *Lebensm. Wiss. u. Technol*. 1997. V. 30. P. 609–615.

#### REFERENCES

prevalence, dietary sources, bioavailability. *Voprosy pitaniya* [Nutrition]. 2008, vol. 77, no. 1, pp. 14–19. (in Russian)

6. Un J.J., Mi-Kyung L., Yong B.P. [et al.] Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in dB / db mice. *J. Pharmacol. and Exper. Therapeutics*. 2006, vol. 318, no. 2, pp. 476–483.

7. NaKatani N., Kayano S., KiKuzaki H. [et al.] Identification, quantitative determination and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunes domestica* L). *J. Agric. Food Chem*. 2000, vol. 48, pp. 5512–5516.

8. Levitskii A.P., Vertikova E.K., Selivanskaya I.A. Chlorogenic acid biochemistry and physiology. *Mikrobiologiya i biotekhnologiya* [Microbiology and Biotechnology.] 2010, no. 2, pp. 6–20. (in Russian)

9. Leitzmann M.F., Stampfer M.J., Willet W.C., [et al.] Coffee cutake is associated with lower risk of symptomatic gallstone disease in women. *Gastroenterology*. 2002, vol. 123, no. 6, pp. 1823–1830.

10. Bondet V. Determination of antioxidative activities of berries. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*. 1997, vol. 30, pp. 609–615.

#### Критериум авторства

Быстрова Е.А., Алексеенко Е.В. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Быстрова Е.А., Алексе-

#### Contribution

Bystrova E.A., Alexeenko E.V. carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Bystrova E.A., Alexeenko E.V. have equal

енко Е.В. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

***Конфликт интересов***

***Conflict of interests***

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**  
***Принадлежность к организации***

**AUTHORS' INDEX**  
***Affiliations***

**Елена В. Алексеенко**  
Московский государственный университет  
пищевых производств,  
Д.т.н, профессор, доцент  
elealekseenk@rambler.ru

**Elena V. Alexeenko**  
Moscow State University of Food Production  
Doctor of Engineering, Professor, Associate Professor  
elealekseenk@rambler.ru

**Екатерина А. Быстрова**  
Московский государственный университет  
пищевых производств,  
Аспирант;  
tixoxod@list.ru

**Ekaterina A. Bystrova**  
Moscow State University of Food Production  
Postgraduate Student  
tixoxod@list.ru

***Поступила 02.02.2017***

***Received 02.02.2017***