

УДК 577.13:582.734.6:634.23

Н.Ю. Колбас¹, В.А. Троянчук²¹канд. биол. наук, доц., зав. каф. химии*Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина*²студентка IV курса биологического факультета*Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина*e-mail: n.kolbas@gmail.com**АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ
И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
ПЛОДОВ ЧЕРЕШНИ БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ***

Представлены данные о динамике антиоксидантной активности и содержании фенольных соединений плодов черешни белорусской селекции при их хранении в условиях заморозки. Антиоксидантная активность была оценена двумя методами и составила 0,05–0,4 ммоль тролокс-эквивалента на 100 г плодов по методу ABTS и 0,07–0,53 ммоль Fe²⁺ на 100 г плодов по методу FRAP. Содержание фенольных соединений варьировало от 18,41 до 98,44 мг галловой кислоты на 100 г плодов. Хранение плодов черешни в условиях заморозки может быть пролонгировано до 5 месяцев без потери общего количества фенольных соединений и без снижения антиоксидантной активности.

Введение

Природные антиоксиданты, содержащиеся в растительном сырье, играют важную роль в предотвращении образования свободных радикалов и, как следствие, развития оксидативного стресса [1]. Ежегодно ассортимент продуктов питания специально, профилактического и лечебного назначения расширяется, а объемы производства возрастают. Данное направление не может эффективно развиваться без совершенствования ресурсной базы.

Одним из перспективных источников антиоксидантов являются плоды пищевого назначения. Так, плоды черешни (*Prunus avium* L.) содержат такие антиоксиданты, как витамин С (1,9–8,3 мг/100 г) [2], Р-активные катехины (11,5–99 мг/100 г) [2–4], фенолкарбоновые кислоты (30,2–169,85 мг/100 г [5–7]) и антоцианы (16,92–475 мг/100 г [5–6; 8]). Кроме того, плоды черешни по вкусовым качествам значительно превосходят другие косточковые культуры.

В Беларуси черешня культивируется на площади около 525 тыс. га, что составляет 0,12 % от мировых значений, и по данным на 2018 г. в мировом рейтинге 68 стран-производителей черешни Республика Беларусь занимает 38 место (0,22 % от мирового производства или 5 395 тыс. т в год) [9]. Селекция черешни в нашей стране ведется порядка 90 лет. По данным на 2018 г. в Государственный реестр сортов Республики Беларусь включены 9 сортов черешни, среди них 7 (Ипуть, Гронковая, Гасцинец, Сюбаровская, Витязь, Медуница, Наслаждение) рекомендованы для культивирования в условиях Брестской области [10]. Создаются новые высокопродуктивные сорта: Милавица [11], Народная, Мария, а также гибриды. Несмотря на имеющиеся в литературе данные о биохимическом составе плодов черешни белорусской селекции, сведения об их антиоксидантной активности (АОА) и фенольных соединениях фрагментарны.

Целью данного исследования было оценить АОА и определить общее содержание фенольных соединений плодов сортов и гибридов черешни белорусской селекции.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

*Работа выполнена в рамках белорусско-сербского научно-технического проекта Б18СРБГ-010 «Фенольные соединения и антиоксидантная активность плодов вишни и черешни сербской и белорусской селекции» (№ ГР 20180998 от 28.06.2018).

- 1) с применением двух методов оценить АОА плодов 9-ти сортов и 3-х гибридов черешни и изучить ее динамику в процессе хранения;
- 2) определить общее содержание фенольных соединений (ОСФС) плодов черешни и изучить динамику параметра в процессе хранения плодов;
- 3) изучить корреляционные связи между параметрами.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования были плоды 9-ти сортов (Витязь – Vt, Гасцинец – GS, Гронковая – Gr, Мария – Mr, Медуница – Mdn, Минчанка – Mn, Наслаждение – N, Народная – Nr, Сюзбаровская – S) и 3-х гибридов (L, G1 (11-31) и G2 (15-126)) черешни белорусской селекции, а также так называемой черешни местной (МВ), культивируемой в г. Бресте.

Плоды заготавливали в стадии потребительской зрелости и из порций массой 100 г получали сок, который далее анализировали. Часть плодов замораживали и хранили при температуре -18°C в течение 5 месяцев. Непосредственно перед анализом плоды размораживали при комнатной температуре, сепарировали, получали сок, который далее анализировали. Все опыты выполнены в трехкратной повторности.

АОА оценивали двумя методами – *ABTS* (от англ. *azinobis (3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid*) и *FRAP* (от англ. *Ferric Reducing Antioxidant Power*).

Катион-радикал *ABTS* готовили согласно рекомендациям [12] и непосредственно перед анализом диспергировали дистиллированной водой до абсорбции $0,7 \pm 0,002$. Изменение оптической плотности смеси рабочего раствора *ABTS*⁺⁺ (3 мл) и анализируемого сока (0,1 мл) регистрировали при длине волны 734 нм после 10 минут инкубирования при температуре $+25^{\circ}\text{C}$. АОА рассчитывали как степень ингибирования. В качестве стандарта использовали тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) и АОА по методу *ABTS* выражали в единицах тролокс-эквивалента (ммоль ТЭ/100 г сырых плодов).

Определение АОА методом *FRAP* проводили согласно рекомендациям [13]. Оптическую плотность анализируемой смеси регистрировали при $\lambda = 593$ нм после 30 минут инкубирования при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. АОА выражали в ммоль Fe^{+2} на 100 г сырых плодов, учитывая линейную зависимость концентрации стандарта от оптической плотности.

Определение ОСФС проводили по стандартизированной методике [14]. Оптическую плотность смеси измеряли при длине волны 765 нм, что соответствует концентрации фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту. В качестве раствора сравнения использовали холостую пробу. Для построения калибровочной кривой готовили серию растворов стандарта с эффективным диапазоном концентраций от 0 до 500 мг/л. Общее количество фенольных соединений выражали в мг галловой кислоты в пересчете на 100 г сырых плодов (мг ГК/100 г), учитывая линейную зависимость концентрации стандарта от оптической плотности раствора при $\lambda = 765$ нм.

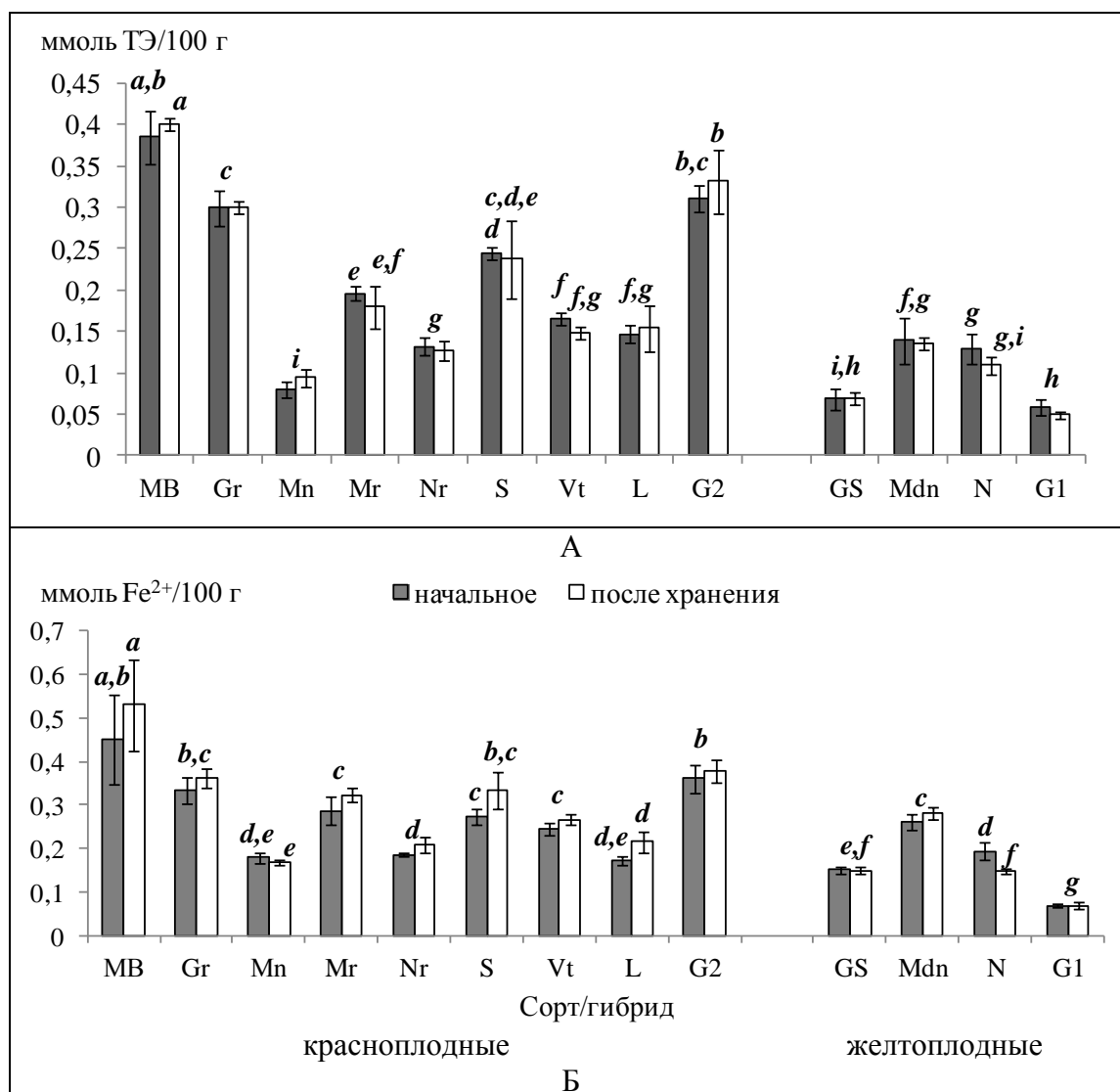
Все измерения проводили на спектрофотометре Proscan MC 122 (ООО «Проскан специальные инструменты», Республика Беларусь) при длине пути светового монохромного луча в 1 см. Для статистической обработки полученных данных применяли программу R (version 2.14.1, R Foundation for Statistical Computing, Австрия).

Результаты исследований и их обсуждение

АОА плодов черешни по методу *ABTS* варьировала от 0,05 до 0,4 ммоль ТЭ/100 г (рисунок 1А). Наибольшая АОА была отмечена у образца МВ, гибрида G2 и снижалась в последовательности: МВ > G2 > Gr > S > Mr > Vt \approx L > Mdn > Nr > N > Mn > GS > G1. Необходимо отметить, что сорта с низкой АОА их плодов выявлены как

для желтоплодной (G1 и GS), так и для красноплодной (Mn, Gr) черешни, в то время как для других плодовых культур, например красных сортов винограда (*Vitis vinifera* L.) [15; 16], красноплодной смородины (*Ribes vulgare* Lam.) [17] и малины (*Rubus idaeus* L.) АОА достоверно выше, чем для их безантоциановых аналогов.

Отличия значений АОА плодов после их хранения от первоначальных были статистически недостоверны (рисунок 1А).



А – метод *ABTS*; Б – метод *FRAP*; MB – Местная черешня, Gr – Гронковская, Mn – Минчанка, Nr – Народная, S – Сюбаровская, Mr – Мария, Vt – Витязь, G2 – гибрид 15-126, L – гибрид, GS – Гасцинец, Mdn – Медуница, N – Наслаждение, G1 – гибрид 11-31; ТЭ – тролокс эквивалент; *a, b, c, d, e, f, g, h, i* – статистические различия в пределах метода (*Tukey*-тест при $p < 0,05$)

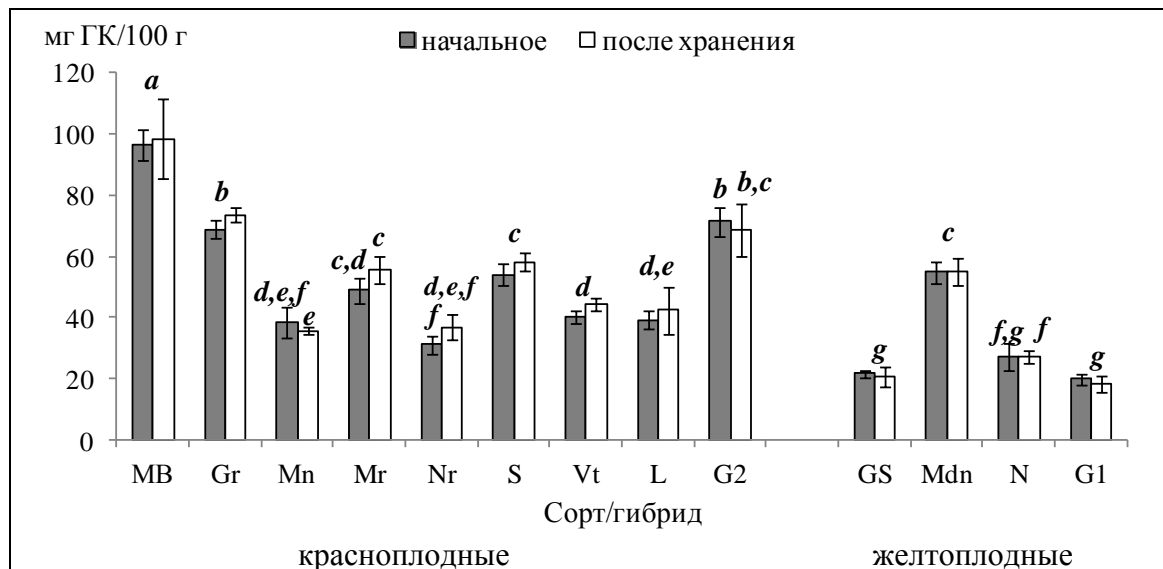
Рисунок 1. – Динамика АОА плодов черешни при их хранении в условиях заморозки

Согласно результатам метода *FRAP* АОА плодов исследованных сортов и гибридов черешни варьировала от 0,07 до 0,53 ммоль Fe²⁺/100 г и снижалась в последовательности: MB > G2 > Gr > Mr > S > Mdn > Vt > N > Nr > Mn ≈ L > GS > G1, а после хранения в последовательности: MB > G2 > Gr > S > Mr > Mdn > Vt > L ≈ Nr > Mn >

GS ≈ N > G1 (рисунок 1Б). Достоверные отличия АОА плодов после хранения от первоначальных были только у сорта N (снижение на 23,5 %).

Необходимо отметить, что полученные нами результаты согласуются с имеющимися литературными данными [18]. В.Л. Halvorsen с соавторами (2002) [18] отмечают среднюю антиоксидантную способность (по методу *FRAP*) плодов черешни. Однако по предложенной нами ранее градации растений по АОА их плодов [19] изученная черешня относится к растениям с низкой антиоксидантной способностью (менее 2 единиц *FRAP*). Тем не менее, по данному параметру черешня превышает хурму (*Diospyros kaki* L.f.), манго (*Mangifera indica* L.), яблоню (*Malus pumila* Miller.), банан (*Musa × paradisiaca* L.), грушу (*Pyrus communis* L.), дыню (*Cucumis melo* L.), арбуз (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) и соответствует абрикосу (*Prunus armeniaca* L.).

Содержание фенольных соединений в плодах черешни составило 18,41–98,44 мг ГК/100 г (рисунок 2). Наибольшее значение параметра отмечено для образца МВ. Сорта и гибриды черешни белорусской селекции можно расположить в порядке снижения параметра в следующей последовательности: G2 > Gr > Mdn > S > Mr > Vt ≈ L > Mn > Nr > N > GS > G1. После хранения плодов последовательность незначительно изменилась: Gr > G2 > S > Mr ≈ Mdn > Vt > L > Nr > Mn > N > GS > G1.



МВ – Местная черешня, Gr – Гронковая, Mn – Минчанка, Nr – Народная, S – Сюбаровская, Mr – Мария, Vt – Витязь, G2 – гибрид 15-126, L – гибрид, GS – Гасцинец, Mdn – Медуница, N – Наслаждение, G1 – гибрид 11-31; ТЭ – тролокс эквивалент; a, b, c, d, e, f, g – статистические различия (*Tukey*-тест при $p < 0,05$)

Рисунок 2. – Динамика общего содержания фенольных соединений в плодах черешни при их хранении в условиях заморозки

Необходимо отметить, что сорта с повышенным ОСФС характерны как для красноплодных сортов (Gr, S, Mr) и гибридов (G2), так и для желтоплодных сортов (Mdn) черешни.

Проведенный статистический анализ выявил положительную корреляцию между ОКФС и АОА (0,877 и 0,839 между ОКФС и *ABTS*, *FRAP* соответственно; 0,827 между методами АОА), что подтверждает сведения других авторов [16–17; 20–21], а также данные предыдущих наших исследований [19; 22]. Кроме того, установлена положительная корреляционная связь для параметров при хранении плодов черешни (таблица).

Отметим, что для красноплодной черешни коэффициенты корреляции между ОСФС и методом *ABTS* были достоверно выше, чем для желтоплодной (0,878 и 0,639 соответственно). При этом коэффициенты между ОКФС и методом *FRAP*, а также между методами АОА для красноплодной и желтоплодной черешни различались незначительно (0,765 и 0,797, 0,785 и 0,714 соответственно). Это подтверждает сортоспецифичность АОА и вклад их фенольных соединений в общую АОА плодов черешни.

Таблица. – Коэффициенты корреляции (*r-Pearson*) между общим количеством фенольных соединений (ОКФС) и антиоксидантной активностью (методы *ABTS* и *FRAP*) плодов черешни при их хранении

	<i>ABTS</i> -нач.	<i>FRAP</i> -нач.	ОКФС-хр.	<i>ABTS</i> -хр.	<i>FRAP</i> -хр.
ОКФС-нач.	0,876***	0,827***	0,923***	–	–
<i>ABTS</i> -нач.	–	0,831***	–	0,939***	–
<i>FRAP</i> -нач.	0,831***	–	–	–	0,868***

Примечание – нач. – начальное, хр. – после хранения; *** – достоверно при уровне значимости p менее 0,001; «–» – коэффициент не рассчитывался.

Заклучение

Среди красноплодных сортов и гибридов наивысшие значения параметров (антиоксидантная активность и содержание фенольных соединений) характерны для МВ, сорта Gr и гибрида G–2, среди желтоплодных – Mdn. Отмеченные сорта могут быть рекомендованы в качестве исходных форм для создания новых сортов и гибридов с повышенным содержанием фенольных соединений и высокой антиоксидантной активностью.

Сорта с повышенным ОСФС характерны как для красноплодной, так и для желтоплодной черешни.

Хранение плодов черешни в условиях заморозки возможно в течение 5 месяцев без потери общего количества фенольных соединений и без снижения антиоксидантной активности (исключение – сорт N).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Frankel, E. N. Food antioxidants and phytochemicals: present and future perspectives / E. N. Frankel // *Fett/Lipid.* – 1999. – Vol. 101, № 12. – P. 450–455.
2. Характеристика сортов черешни, выращенной в ЦЧР России, по химическому составу плодов / М. А. Макаркина [и др.] // *Современное садоводство : электрон. журн.* – 2013. – № 1. – С. 1–7. – Режим доступа: <http://journal.vni-ispk.ru/pdf/2013/1/63.pdf>. – Дата доступа: 16.03.2017.
3. Arts, I. C. W. Catechin Contents of Foods Commonly Consumed in the Netherlands. 1. Fruits, Vegetables, Staple Foods, and Processed Foods / I. C. W. Arts, B. van de Putte, P. C. H. Hollman // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2000. – Vol. 48, № 5. – P. 1746–1751.
4. Pascual-Teresa, S. de. Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages / S. de Pascual-Teresa, C. Santos-Buelga, J. C. Rivas-Gonzalo // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2000. – Vol. 48, № 11. – P. 5331–5337.
5. Gao, L. Characterization, quantitation, and distribution of anthocyanins and colorless phenolics in sweet cherries / L. Gao, G. Mazza // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 1995. – Vol. 43. – P. 343–346.

6. Mozetic, B. Determination and quantitation of anthocyanins and hydroxycinnamic acids in different cultivars of sweet cherries (*Prunus avium* L.) from Nova Gorica region (Slovenia) / B. Mozetic, P. Trebse, J. Hribar // Food Technology and Biotechnology. – 2002. – Vol. 40. – P. 207–212.

7. Moeller, B. Quinic acid esters of hydroxycinnamic acids in stone and pome fruit / B. Moeller, K. Herrmann // Phytochemistry. – 1983. – Vol. 22. – P. 477–481.

8. Колбас, Н. Ю. Спектрофотометрическая характеристика антоцианов плодов черешни белорусской селекции / Н. Ю. Колбас, В. А. Троянчук, D. Prvulović // Состояние и перспективы разработки, использования биологически активных соединений в научной и практической деятельности : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Брест, 4–5 окт. 2018 г. / Брест. гос. ун-т им. А.С. Пушкина ; под ред. С. М. Ленивко. – Брест, 2018. – С. 138–142.

9. FAOstat. Crop data. Cherries. 2018 [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.fao.org/faostat>. – Date of access: 20.12.2018.

10. Государственный реестр сортов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.sorttest.by/d/306784/d/gosudarstvennyu_reyestr_2018.pdf. – Дата доступа: 10.02.2018.

11. Вышинская, М. И. Новый сорт черешни Минчанка / М. И. Вышинская, А. А. Таранов // Плодоводство : сб. науч. тр. / Ин-т плодоводства Нац. акад. наук Беларуси ; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2013. – Т. 25. – С. 206–211.

12. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re [et al.] // Free Rad. Biology and Medicine. – 1999. – Vol. 26, № 9/10. – P. 1231–1237.

13. Benzie, I. F. F. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay / I. F. F. Benzie, J. J. Strain // Journal Analytical Biochemistry. – 1996. – № 23. – P. 70–76.

14. Waterhouse, A. L. Determination of Total Phenolics / A. L. Waterhouse // Current Protocols in Food Analytical Chemistry. – 2002. – P. 11.1.1–11.1.8.

15. Antioxidant capacity and phenolic content of grapes four typical bordeaux cultivars / N. Kolbas [et al.] // Oeno2011. Actes de colloques du 9^{em} symposium international d'oenologie de Bordeaux, France. – Faculté d'oenologie de Bordeaux, 2011. – P. 143–145.

16. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods / V. M. Burin [et al.] // Microchemical Journal. – 2014. – Vol. 114. – P. 155–163.

17. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and Their Antioxidant Capacity / X. Wu [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – Vol. 52, № 26. – P. 7846–7856.

18. A Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants / B. L. Halvorsen [et al.] // Journal of Nutrition. – 2002. – № 132. – P. 461–471.

19. Колбас, Н. Ю. Антиоксидантный потенциал некоторых представителей семейства Rosaceae флоры Брестского Полесья / Н. Ю. Колбас, А. П. Колбас // Новые подходы экологической оптимизации хозяйственных угодий и приграничных территорий Белорусского Полесья : сб. науч. ст. регион. науч.-практ. конф., Брест, 16–17 июня 2011 г. / Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина ; под общ. ред. А. С. Шика. – Брест, 2011. – С. 24–27.

20. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Raspberry and Blackberry Cultivars / E. Sariburun [et al.] // Journal of Food Science. – 2010. – Vol. 75, № 4. – P. 328–335.

21. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC Assays / S. Dudonné [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2009. – Vol. 57, № 5. – P. 1768–1774.

22. Wine by-Products: Phenolic Characterization and Antioxidant Activity Evaluation of Grapes and Grape Pomaces from Six Different French Grape Varieties / I. Ky [et al.] // *Molecules*. – 2014. – Vol. 19. – P. 482–506.

Рукапіс паступіў у рэдакцыю 21.01.2019

Kolbas N.Y., Trayanchuk V.A. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of the Sweet Cherries Fruits Belarusian Selection

The data of dynamic of antioxidant activity and changes of polyphenols content of sweet cherries varieties are presented in this article. Antioxidant activity was evaluated by two methods and showed 0.05–0.4 mmol of trolox equivalents per 100 g of FW fruit by the ABTS and 0.07–0.53 mmol of Fe²⁺ per 100 g of FW fruit by the FRAP method. The total phenolic content varied from 18.41 to 98.44 mg of gallic acid per 100 g of FW fruit. Fruit storage under freezing conditions can be prolonged up to 5 months without losing the total amount of phenolic compounds and without reducing antioxidant activity.