

УДК 664.8+634.11

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ФЛАВОНОИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЯБЛОК РАЗНЫХ СОРТОВ

© Н.В. Макарова¹, Д.Ф. Валиулина^{1*}, О.И. Азаров², А.А. Кузнецов²

¹ Самарский государственный технический университет,
ул. Молодогвардейская, 244, Самара, 443100 (Россия),
e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

² ГБУ СО НИИ «Жигулевские сады», 18 км Московского шоссе, Самара,
443072 (Россия)

В данной статье рассматриваются наиболее часто применяемые способы исследования антиоксидантов. В качестве объектов исследования были выбраны 6 сортов яблок (23-25-64, 23-17-22, 23-20-50, 23-25-51, 23-31-135, Синап Самарский) из коллекции НИИ «Жигулевские сады» урожая 2016 года, выращиваемых на территории Самарской области. Для исследования был получен водно-спиртовой экстракт (1 : 1) при температуре 37 °С в течение 2 ч. Проведены анализы на содержание общего количества фенольных соединений по содержанию галловой кислоты, флавоноидов по содержанию катехина, антирадикальную способность с использованием свободного радикала DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила), восстанавливающую силу по методу FRAP (ferric reducing antioxidant power), антиоксидантную активность в системе линолевая кислота. Значительное число методов оценки антиокислительной активности соединений систематизировано по способу регистрации параметров, на основе которых определяется антиокислительная активность, в том числе количественно. В результате сравнительного изучения содержания фенольных соединений, флавоноидов, антирадикальной способности по методу с реактивом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом, восстанавливающей силы по методу FRAP с реактивом 2,4,6-три(2-пиридил)-1,3,5-триазином, антиоксидантной активности на модели с линолевой кислотой для шести сортов яблок были выявлены как лидеры по отдельным показателям (фенольные соединения – яблоки сорта 23-20-50, флавоноиды – яблоки сорта 23-20-50, антирадикальной способности – яблоки сорта 23-25-51, FRAP-значения – яблоки сорта 23-20-50, антиоксидантной способности – Синап Самарский), так и в целом по большинству показателей – яблоки сорта 23-20-50.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, яблоки, фенольные соединения, флавоноиды.

Введение

Ученые давно уже высказывают мнение, что ухудшение здоровья населения в России напрямую связано с ухудшением качества питания. Большинство россиян не дают себе труда задуматься, что они едят? Между тем именно питание является тем фактором, который каждодневно либо ухудшает, либо улучшает здоровье человека. Широкое распространение данных современных исследований по химическому составу и свойствам привычных продуктов и исходного сырья должно способствовать исправлению проблемы питания в России.

Макарова Надежда Викторовна – доктор химических наук, заведующая кафедрой технологии и организации общественного питания, профессор,
e-mail: fpp@samgtu.ru

Валиулина Динара Фанисовна – кандидат технических наук, доцент кафедры технологии и организации общественного питания, e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

Азаров Олег Игоревич – директор,
e-mail: golden-apple08@mail.ru

Кузнецов Анатолий Александрович – старший научный сотрудник, кандидат сельскохозяйственных наук,
e-mail: golden-apple08@mail.ru

Антиоксиданты играют значительную роль в биохимических и физиологических процессах в плазме, крови, тканях человека [1]. Недостаток антиоксидантов в организме приводит к возникновению окислительного стресса, который вызывает, по мнению многих авторитетных медиков, такие заболевания, как атеросклероз, болезнь Паркинсона, Альцгеймера, Хантингтона, инсульт, синдром Дауна, инфаркт. Окислительный стресс является послед-

* Автор, с которым следует вести переписку.

ствием действия свободных радикалов. Причиной возникновения свободных радикалов является радиация, ультрафиолетовое облучение и все химические превращения, связанные с полициклическими ароматическими углеводородами. Свободные радикалы в организме человека частично или полностью разрушают липиды, протеины, вызывают мутацию клеток и генов.

Поиск антиоксидантов среди растительного сырья является очень важной проблемой и для Российской Федерации. Например, было проведено [2] изучение антирадикальных свойств сока свежего имбиря, эфирного масла и олеорезина имбиря, которые доказывают несомненное преимущество олеорезина имбиря.

Российские ученые изучили антиоксидантное действие на модели по окислению кумола для эфирного масла тимьяна [3]. Установлено, что эфирное масло тимьяна обладает довольно сильной антиоксидантной активностью.

Алоэ и каланхоэ широко известны в народной медицине. Вместе с тем исследования [4, 5] их антиоксидантной активности амперометрическим методом выявили и для них высокие уровни антиоксидантного действия.

При этом многие ученые связывают напрямую уровни антиоксидантной активности с химическим составом растительного сырья, например, для растений рода *Agastache* Clayton Ex Gron (*Lamiaceae* L.) [6] и *Spirae* L. [7].

К полифенолам относят вещества, содержащие несколько ОН-групп в ароматических кольцах. Среди полифенолов наиболее важным классом являются флавоноиды, которые включают в себя флавонолы, флавоны, антоцианидины и изофлавоноиды и др. За последние годы проведены большие исследования по изучению биодоступности полифенолов в организме человека. Например, установлено [8], что концентрация полифенолов в плазме человека может достигать значения 0.1–10 $\mu\text{моль/л}$. В другой работе [9] изучается абсорбция и метаболизм полифенолов в кишечном тракте. Результаты свидетельствуют о высокой степени усвоения полифенолов. В работе [10] американских ученых дана сравнительная характеристика результатов изучения антиоксидантной активности яблок в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Обнаружена высокая корреляция между этими данными, что, по мнению авторов, свидетельствует о высоком возможном содержании флавоноидов в плазме. Яблоки являются для организма человека наиболее существенными поставщиками кверцетина. Малазийские ученые изучили [11] влияние кверцетина на показатели оксидативного стресса: содержания гидропероксидов липидов, энзимных антиоксидантов. А российские ученые обнаружили [12] также и антоцианы в яблоках.

Хотя многие фрукты и их соки проявляют более высокий антиоксидантный потенциал *in vitro*, чем яблоки, однако яблоки являются более важным сырьевым ресурсом в качестве антиоксиданта, так как их мировое производство – одно из самых значительных в мире из фруктов. Яблоки являются важнейшим источником фитонутриентов, обладающих биологической активностью и влиянием на здоровье, таких как витамин С, калий, диетические волокна. За счет этих компонентов снижается содержание в живых системах насыщенных жиров, холестерина и натрия.

Большая часть энергетической ценности яблок обусловлена содержанием углеводов, которые преимущественно состоят на ~60% из фруктозы, на ~20% из глюкозы и на ~20% из сахарозы. Благодаря этому составу углеводов гликемический индекс (GI) яблок составляет 28–44, что входит в низкие категории GI<55.

Ряд публикаций ученых посвящены изучению взаимосвязи между потреблением яблок и таким широко распространенным заболеванием, как диабет. Яблоки являются основным источником флоредзина. Японские ученые доказали снижение уровня содержания сахара в крови при повышении количества метаболитов флоредзина при наблюдениях в течение 14 дней [13]. На примере грызунов изучено [14] влияние содержания диеты с добавлением различных продуктов, в том числе и яблок, на риск возникновения диабета. Американские ученые провели [15–17] широкомасштабные исследования по выявлению взаимосвязи диеты, богатой флавоноидами фруктов, и риском возникновения диабета 2-го типа, результаты которых свидетельствуют о положительной корреляции как в случае женщин старше 45 лет, так и мужчин и женщин моложе 45 лет. Таким образом, потребление яблок снижает уровень глюкозы при диабете 2 типа.

Выведение новых сортов фруктов всегда был и будет одним из важных разделов сельскохозяйственной науки, которая помогает решать задачи повышения урожайности и улучшения качества продукции. Вся история земледелия тесно связана с постоянным и безостановочным улучшением сельскохозяйственных растений, позволяющим полнее удовлетворить потребности человека в разнообразных продуктах питания. Во многих странах мира многочисленная армия селекционеров работает над созданием урожайных высококачественных иммунных и зимостойких сортов плодовых, ягодных растений, винограда и субтропических культур, хорошо приспособленных к разнообразным почвенно-климатическим условиям. В процессе выведения новых сортов накапливается опыт и совершенствуются методы селекции на базе современных достижений генетики, цитологии, физиологии, биологической статистики и т.д.

В настоящее время качество продукции уже не оценивается по общему урожаю, но и по содержанию в нем основных соединений, определяющих питательные и технологические качества продукта. Ранее для оценки качества плодов на первый план выступали такие показатели как содержание сухих веществ, сахаров, органических кислот, витаминов и т.д. В связи с увеличением роли фенольных веществ из фруктов в профилактике окислительного стресса организма человека и с накоплением знаний в области антиоксидантной активности фруктов впоследствии будут ставиться задачи по выведению сортов фруктов с высокими показателями антиоксидантной активности.

В целом ряде работ на экспериментальных данных доказана взаимосвязь между сортом яблок, химическим составом и антиоксидантной активностью. На примере семи сортов яблок, собранных в сентябре – ноябре 2009 г. на территории Люксембурга, показана [18] определяющая роль такого фактора, как сорт на уровень содержания фенольных соединений, флавоноидов, хелирующую активность, восстанавливающую силу и способность улавливать свободные радикалы ABTS. Наивысшие значения большинства показателей имеет сорт яблок Grauapfel.

В работе [19] португальских ученых приведены данные исследований общего содержания фенолов, индивидуального фенольного состава методом ВЭЖХ (количественного содержания катехина, эпикатехина, флоридина и т.д.), антиоксидантной активности по методам ORAC и HORAC для четырех сортов «традиционных» и четырех сортов «экзотических» яблок. Общее содержание фенольных веществ, хлорогеновой кислоты, флоридина наивысшее для яблок сорта Reineta Parda, тогда как антиоксидантная активность максимальна для яблок сорта Malapio Fino.

На примере пяти сортов яблок – Red Delicious, Granny Smith, Royal Gala, Fuji, Pink Lady – показана [20] зависимость уровня таких показателей как общее содержание фенольных веществ и восстанавливающая сила по методу FRAP. Яблоки сорта Red Delicious являются наилучшими антиоксидантами.

Семь сортов яблок (King Luscious, Amasya, Ervin Spur, Sky Spur, Arap Kizi, Lutz Golden, Granny Smith), собранных на территории Турции в сентябре 2007 года, стали объектом исследования [21] индивидуального фенольного состава методом ВЭЖХ и антиоксидантной активности по методу ABTS. Лидером среди всех сортов является Amasya.

Все эти литературные данные свидетельствуют, что яблоки в зависимости от сорта имеют весьма различные показатели и, таким образом, исследования новых сортов яблок очень перспективны.

Экспериментальная часть

Метод приготовления экстрактов исследуемых образцов. Навеску измельченного продукта 1 г (для экстракта концентрацией 0.1 г/см³) помещали в колбу с притертой пробкой, добавляли 10 мл 98%-ого этилового спирта разбавленного водой в соотношении 1 : 1, выдерживали в термостате при 37 °С в течение 2 ч при непрерывном перемешивании. Далее отделяли прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течение 15 мин при скорости 3000 об/мин.

Метод определения общего содержания фенольных веществ. Определение фенольных веществ основано на их способности связываться с белковыми веществами, осаждаться солями металлов, окисляться и давать цветные реакции. Исследования проводились по методу [22]. Колориметрический метод определения общего содержания фенольных веществ основан на применении реактива Фолина-Чокальтеу. Под реактивом Фолина-Чокальтеу подразумевают реактив Folin-Ciocalteu, который готовят из: вольфрамата Na, молибдата Na, H₂O, 85%-ной H₃PO₄, HCl, сульфата Li и Br₂. Реакцию Фолина-Чокальтеу и ее варианты применяют для обнаружения и фотометрического определения фенолов, тиолов и дисульфидов (цистина, цистеина), пуриновых оснований (гуанина, ксантина, 2-гидроксиаденина), мочевой кислоты, пептидов и белков, содержащих тирозин и триптофан. В присутствии перечисленных соединений в щелочной среде реактив Фолина-Чокальтеу восстанавливается при окислении фенолов до смеси синих оксидов WO₂·nWO₃ или MoO₂·nMoO₃. Образующаяся голубая окраска пропорциональна количеству фенольных веществ. Интенсивность синей окраски измеряется на приборе типа ФЭК при длине волны 725 нм.

В стерильных пробирках приливали к 0.25 мл готового экстракта концентрацией 0.1 мг исходного сырья/см³, 0.25 мл 50%-ого водного раствора реактива Folin-Ciocalteu, 0.50 мл насыщенного раствора карбоната натрия и 4.00 мл дистиллированной воды. В контрольную пробу приливали вместо экстракта 0.25 мл дистиллированной воды. Смесь выдерживали 25 мин при 25 °С при постоянном помешивании для завершения реакции. Далее пробы центрифугировали 10 мин при скорости 2000 об/мин.

Содержание фенольных веществ в прозрачном растворе определяли спектрофотометрическим методом на приборе КФК. Спектр поглощения снимали при длине волны 725 нм в кювете с толщиной слоя

жидкости 10 мм. В кювету сравнения помещали контрольную пробу. Калькуляцию фенольных соединений в мг галловой кислоты/100 г продукта проводили по калибровочной кривой.

Метод определения общего содержания флавоноидов. Исследования содержания флавоноидов проводят по методу [23] с модификацией для яблок. В пробирки помещали 0.50 мл экстракта концентрацией 0.1 мг/см^3 , 2.50 мл дистиллированной воды, 0.15 мл раствора 5% нитрита натрия. Выдерживали в течение 5 мин. Затем приливали 0.30 мл 10%-ого хлорида алюминия (III), выдерживали в течение 5 мин. Добавляли 1.00 мл 1 М гидроксида натрия и 5.00 мл дистиллированной воды.

Содержание флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом на приборе КФК. Спектр поглощения снимали при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения помещали дистиллированную воду. Калькуляцию флавоноидов в мг катехина/100 г продукта проводили по калибровочной кривой.

DPPH-метод (метод определения активности по гашению свободных радикалов с использованием реактива 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила). Одним из способов оценки антиоксидантной активности является колориметрия свободных радикалов. Данный метод основан на реакции стабильного синтетического радикала DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила), растворенного в этаноле, с образцом антиоксиданта, содержащегося в экстракте [24]. В результате восстановления свободного радикала DPPH антиоксидантами яблок снижается пурпурно-синяя окраска DPPH на желтую, так как происходит переход свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила, имеющего пурпурно-синюю окраску, в стабильную молекулу 2,2-дифенил-1-пикрилгидразина который имеет желтую окраску.

В пробирки помещали 0.20 мл экстракта соответствующей концентрации (0.005, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 г/см^3), 2.00 мл дистиллированной воды, 2.00 мл спиртового раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. В контрольную пробу по экстракту помещали вместо раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила и дистиллированную воду. В контрольную пробу по раствору 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила приливали вместо экстракта дистиллированную воду. Смесь выдерживали в течение 30 мин в недоступном для света месте.

Колориметрию свободных радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила проводили спектрофотометрическим методом на приборе КФК при длине волны 517 нм в кювете толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения помещали этиловый спирт.

Для проведения этого исследования в качестве экстракта использовали экстракты с концентрацией 0.005, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 г/см^3 .

FRAP-метод (метод определения железо-восстанавливающей антиоксидантной способности экстрактов). Исследование восстанавливающей силы было проведено по методу [25] с модификацией для яблок. Подготавливали реактив FRAP: в колбу помещали 10,00 мл ацетатного буфера pH 3.6, 1.00 мл 20 мМ раствора хлорида железа (III), 1.00 мл реагента 2,4,6-три-(2-пиридил)-1,3,5-триазина (TPTZ). Смесь выдерживали в термостате в течение 10 мин при температуре 37°C при периодическом перемешивании.

В пробирки прибавляли 1.00 мл реактива FRAP, 3.00 мл дистиллированной воды, 0.10 готового экстракта концентрацией 0.1 мг/см^3 . В контрольную пробу приливали вместо экстракта 0.10 мл дистиллированной воды. Смесь выдерживают 4 мин при температуре 37°C при периодическом перемешивании.

Определение железовосстанавливающей антиоксидантной способности проводили спектрофотометрическим методом на приборе КФК при длине волны 593 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения приливали дистиллированную воду. Определение железовосстанавливающей антиоксидантной способности проводили по калибровочной кривой в ммоль Fe^{2+} /1 кг исходного сырья.

Метод оценки антиоксидантных свойств с использованием модельной системы с линолевой кислотой. Метод исследований на модели с линолевой кислотой основан на регистрации перокисления линолевой кислоты, которое определялось по реакции веществ, реагирующих с радикалом аммония и хлоридом железа (II) при 500 нм, образующихся при нагревании при 40°C за период 120 ч смеси из экстракта фруктов, линолевой кислоты, фосфатного буфера и Tween-20 [26].

В колбы, снабженные притертой пробкой, к 1.00 мл экстракта концентрацией 0.1 мг/см^3 приливали 1.00 мл 2.51% спиртового раствора линолевой кислоты, 2.00 фосфатного буфера pH 7.0, добавляли 1.00 мл 50% этилового спирта и 1 мл Tween 20. В пробы контроля вместо экстракта добавляли дистиллированную воду. Пробы выдерживали в термостате в течение 120 ч при температуре 40°C . После выдержки отбирали 0.01 мл смеси, добавляли 9.70 мл 75% этилового спирта, 0.10 мл 30% раствора аммониевой соли тиоциановой кислоты. Выдерживали в течение 3 мин. Добавляли 0.10 мл 0.1 М раствора хлорида железа (II).

Анализ проводили спектрофотометрическим методом на приборе КФК при длине волны 500 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения приливали дистиллированную воду. Результаты рассчитывали в процентах ингибирования процессов окисления линолевой кислоты.

Обсуждение результатов

Уровень содержания фенолов является очень важным показателем. Многие ученые считают, что именно уровень содержания фенолов определяет показатели антиоксидантной активности [27]. Для такого растительного сырья, как яблоки уровень фенольных веществ в очень большой степени зависит от следующих факторов: климатическая зона, тип почвы, количество солнечных дней, объем выпавших осадков и т.д., но из всех этих факторов одним из самых значительных является сорт яблок. Именно выведение новых сортов с определенными химическими показателями являются одной из важнейших проблем для селекционеров фруктового сырья. Точное изучение показателей химического состава яблок позволяет выделить наиболее перспективные сорта. По содержанию фенольных веществ (рис. 1) три сорта: 23-17-23, 23-31-135, Синап Самарский имеют значения около 200 мг галловой кислоты/100 г исходного сырья. Три сорта яблок входят в одну группу яблок с высоким содержанием фенольных веществ: 23-25-64, 23-20-50, 23-25-51. И именно эти сорта можно рекомендовать как наиболее перспективные по содержанию фенольных веществ.

Флавоноиды являются важным классом среди фенольных соединений, так как именно этот класс веществ проявляет различных виды биологической активности [27]. Очень высоким содержанием флавоноидов (рис. 2) обладают изученные сорта яблок – 23-20-50 и Синап Самарский. В среднюю группу по содержанию флавоноидов входят сорта яблок 23-25-64 и 23-17-22. Два сорта яблок имеют очень низким уровнем содержания флавоноидов – 23-25-51 и 23-1-135.

Именно свободные радикалы обладают наибольшей активностью и оказывают максимальное разрушающее действие на клетку человека. Среди нескольких методик исследования антирадикальной активности именно методика с использованием 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом являются самой широко используемой и наиболее «авторитетной». Именно уровень улавливания свободных радикалов характеризует способность антиоксиданта противостоять состоянию организма, называемому оксидативным стрессом. Уровень улавливания свободных радикалов является чрезвычайно важным показателем. По уровню этих показателей можно выделить три сорта – 23-25-51, 23-31-135, Синап Самарский, а три сорта имеют очень низкие показатели – 23-25-64, 23-17-22, 23-20-50 (рис. 3).

Именно катализ ионами металлов значительно ускоряет процессы окисления как в липидсодержащих системах, так и в живой клетке. Уровень FRAP показателя характеризует способность тормозить катализирующее действие ионов железа в процессах окисления. Необходимо отметить, что именно фрукты имеют наиболее высокие значения восстанавливающей силы.

Все изученные сорта яблок по изученному показателю делятся на три группы: 1 – с высокими значениями (23-20-50 и Синап Самарский), 2 – со средними показателями (23-25-51 и 23-31-135), 3 – с низким показателем FRAP (23-25-64 и 23-17-22) (рис. 4).

Только один сорт яблок – Синап Самарский – обладает способностью ингибировать окисление линолевой кислоты (рис. 5).

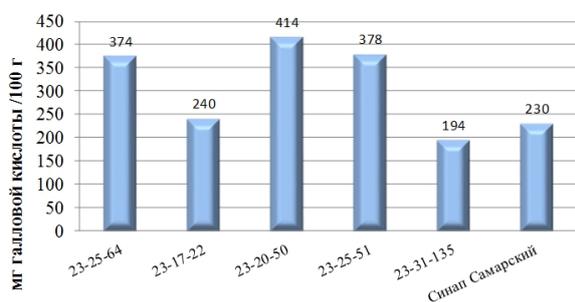


Рис. 1. Общее содержание фенольных веществ в изученных сортах яблок

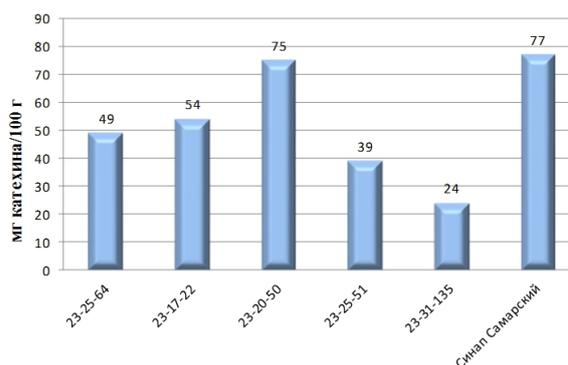


Рис. 2. Общее содержание флавоноидов в яблоках

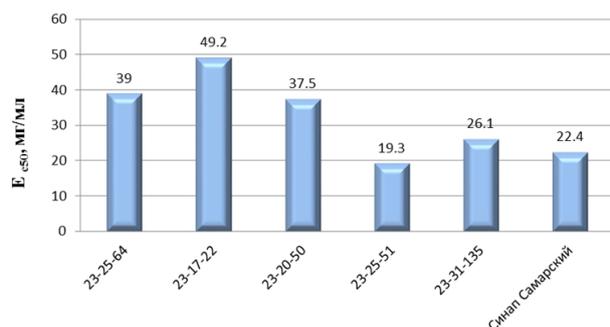


Рис. 3. Антирадикальная активность новых сортов яблок

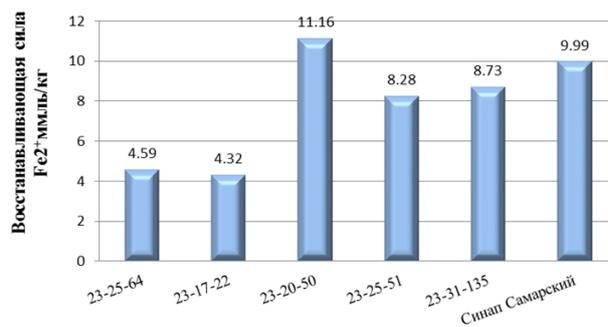


Рис. 4. Восстанавливающая сила по методу FRAP для яблок

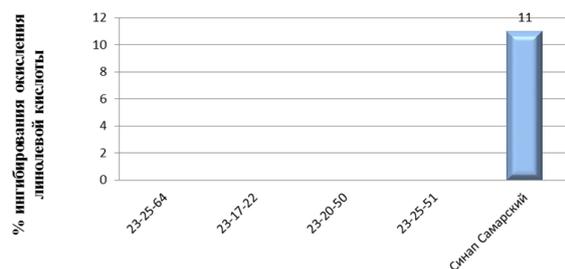


Рис. 5. Ингибирующая активность в системе линолевая кислота яблок

Выводы

Суммируя полученные данные, можно констатировать:

- 1) уровень изученных показателей для яблок определяется сортом яблок;
- 2) сорт яблок 23-20-50 имеет высокое содержание фенольных веществ и флавоноидов;
- 3) сорта яблок Синап Самарский и 23-25-51 обладают самыми значительными показателями антирадикальной активности, восстанавливающей силы и способностью ингибировать окисление линолевой кислоты;
- 4) если сравнить показатели для изученных сортов яблок с другими фруктами [27], то яблоки по уровню показателей не уступают ягодам, тогда как урожайность яблок намного превышает урожайность других плодовых культур в Самарской области.

В целом необходимо отметить высокую перспективность выведения новых сортов яблок для получения образцов с новыми показателями химического состава и антирадикальной активности.

Список литературы

1. Packer L., Sies H. Oxidative stress and inflammatory mechanisms in obesity, diabetes, and the metabolic syndrome. New York: CRC Press, 2008. 322 p.
2. Мишарина Т.А., Алипкина Е.С., Фаткуллина Л.Д. Оценка антирадикальных свойств компонентов корня имбиря // Химия растительного сырья. 2013. №1. С. 183–189.
3. Варданян Л.Р., Айрапетян С.А., Варданян Р.Л., Аветисян А.Э. Антиоксидантное действие эфирного масла тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) // Химия растительного сырья. 2013. №3. С. 143–148.
4. Сажина Н.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В., Короткова Е.И., Мисин В.М. Сравнительный анализ антиоксидантной активности соков каланхое // Химия растительного сырья. 2013. №3. С. 113–119.
5. Сажина Н.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В., Мисин В.М. Сравнительное изучение антиоксидантных свойств экстрактов различных видов алоэ // Химия растительного сырья. 2015. №2. С. 169–176.
6. Мяделец М.А., Кукушкина Т.А., Воробьева Т.А., Шалдаева Т.М. Биологически активные вещества и антиоксидантная активность растений рода *Agastache* Gayton Ex Gron. (*Lamiaceae* L.), культивируемых в условиях Среднего Урала // Химия растительного сырья. 2014. №4. С. 147–152.
7. Костикова В.А., Шалдаева Т.М. Биологически активные вещества и антиоксидантная активность растений рода *Spiraea* L. Дальнего Востока России // Химия растительного сырья. 2016. №2. С. 73–78.
8. Kroon P.A., Clifford M.N., Crozier A., Day A.J., Donovan J.L., Manach C., Williamson G. How should we assess the effects of exposure to dietary polyphenols in vitro? // Am. J. Clin. Nutr. 2004. Vol. 80. N1. Pp. 15–21.
9. Biedrzycka E., Amarowicz R. Diet and health: apple polyphenols as antioxidants // Food Rev. Int. 2008. Vol. 24. N2. Pp. 235–251.

10. Lotito S.B., Frei B. The increase in human plasma antioxidant capacity after apple consumption is due to the metabolic effect of fructose on urate, not apple-derived antioxidant flavonoids // *Free Radical Biology and Medicine*. 2004. Vol. 37. N2. Pp. 251–258.
11. Haleagrahara N., Radhakrishan A., Lee N., Kumar P. Flavonoid quercetin protects against swimming stress-induced changes in oxidative biomarkers in the hypothalamus of rats // *Eur. J. Pharm.* 2009. Vol. 621. N1. Pp. 46–52.
12. Дейнека В.И., Соломатин Н.М., Дейнека Л.А., Сорокопудов В.Н., Макаревич С.Л. Яблоки с красной мякотью как источник антоцианов // *Химия растительного сырья*. 2014. №4. С. 163–168.
13. Masumoto S., Akimoto Y., Oike H., Kobori M. Dietary phloridzin reduces blood glucose levels and reverses Sglt1 expression in the small intestine in streptozotocin-induced diabetic mice // *J. Agr. and Food Chem.* 2009. Vol. 57. N11. Pp. 4651–4656.
14. Mueller D.B., Koczwara K., Mueller A., Pallauf J., Ziegler A.-G., Bonifacio E. Influence of early nutritional components on the developments of murine autoimmune diabetes // *Ann. Nutr. and Metab.* 2009. Vol. 54. N8. Pp. 208–217.
15. Song Y., Manson J.E., Buring J.E., Sesso H.D., Liu S. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis // *J. Am. Coll. Nutr.* 2005. Vol. 24. N5. Pp. 376–384.
16. Knekt P., Kumpulainen J., Järvinen R., Rissanen H., Heliövaara M., Reunanen A., Hakulinen T., Aromaa A. Flavonoid intake and risk of chronic diseases // *Am. J. Clin. Nutr.* 2002. Vol. 76. N8. Pp. 560–568.
17. Nettleton J.A., Harnack L.J., Scrafford C.G., Mink P.J., Barraj L.M., Jacobs D.R. Dietary flavonoids and flavonoid-rich foods are not associated with risk of type 2 diabetes in postmenopausal women // *J. Nutr.* 2006. Vol. 136. N12. Pp. 3039–3045.
18. Bouaoued J., Hoffmann L., Bohn T. Antioxidative mechanism of whole-apple antioxidants employing different varieties from Luxemburg // *J. Med. Food*. 2011. Vol. 14. N12. Pp. 1631–1637.
19. Serra A.T., Rocha J., Sepodes B., Matias A.A., Feliciano R.P., de Carvalho A., Bronze M.R., Duarte C.M.M., Fogueira M.E. Evaluation of cardiovascular protective effect of different apple varieties – correlation of response with composition // *Food Chem.* 2012. Vol. 135. N4. Pp. 2378–2386.
20. Karaman S., Tutem E., Baskan K.S., Apak R. Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC–CUPRAC assay // *Food Chem.* 2010. Vol. 120. N4. Pp. 1201–1209.
21. Duda-Chodak A., Tarko T., Satora P., Sroka P., Tuszyński T. The profile of polyphenols and antioxidant properties of selected apple cultivars grown in Poland // *J. Fruit and Orn. Plant Res.* 2010. Vol. 18. N2. Pp. 39–50.
22. Escobedo-Avallaneda Z., Cutiérrez-Urbe J., Valdez-Fragoso A., Torres J.A., Welti-Chanes J. Phytochemicals and antioxidant activity of juice, flavedo, albedo and comminuted orange // *J. Funct. Foods*. 2014. Vol. 6. N4. Pp. 470–481.
23. Vieira F.G.K., Borges G.S.C., Copetti C., Di Pietro P.F., Nunes E.C., Fett R. Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil // *Sci. Hort.* 2011. Vol. 128. N3. Pp. 261–268.
24. Cheng V.J., Bekhit A.E.-D.A., McConnell M., Mros S., Zhao J. Effect of extraction solvent, waste fraction and grape variety on the antimicrobial and antioxidant activities of extraction from wine residue from cool climate // *Food Chem.* 2012. Vol. 134. N1. Pp. 474–482.
25. Henríquez C., Almonacid S., Chiffelle I., Valenzuela T., Araya M., Cabezas L., Simpson R., Speisky H. Determination of antioxidant capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit tissue of five apple cultivars grown in Chile // *Chil. J. Agr. Res.* 2010. Vol. 70. N4. Pp. 523–536.
26. Ventura J., Alarcon-Aguilar F., Roman-Ramos R., Campos-Sepulveda E., Reyes-Vega M.L., Boone-Villa V.D., Jasso-Villagomez E.I., Aguilar C.N. Quality and antioxidant properties of a reduced-sugar pomegranate juice jelly with an aqueous extract of pomegranate peels // *Food Chem.* 2013. Vol. 136. N1. Pp. 109–115.
27. Макарова Н.В. Антиоксидантные свойства фруктов: факторы влияния, применение, готовые продукты. Самара, 2015. 471 с.

Поступило в редакцию 1 июня 2017 г.

После переработки 26 февраля 2018 г.

Для цитирования: Макарова Н.В., Валиулина Д.Ф., Азаров О.И., Кузнецов А.А. Сравнительные исследования содержания фенольных соединений, флавоноидов и антиоксидантной активности яблок разных сортов // *Химия растительного сырья*. 2018. №2. С. 115–122. DOI: 10.14258/jcrpm.2018022205

Makarova N.V.¹, Valiulina D.F.^{1*}, Azarov O.I.², Kuznetsov A.A.² OMPARATIVE STUDIES OF THE CONTENT OF PHE-
NOLIC COMPOUNDS, FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF APPLES OF DIFFERENT VARIETIES

¹ Samara State Technical University, ul. Molodogvardeyskaya, 244, Samara, 443100 (Russia),
e-mail: dinara-bakieva@mail.ru.

² GBU SRI SRI "Zhigulevsky Gardens", 18 km of Moscow Highway, Samara, 443072 (Russia)

In this article discusses the most commonly used methods of investigation of antioxidants. Six varieties of apples (23-25-64, 23-17-22, 23-20-50, 23-25-51, 23-31-135, Sinap of Samara) were selected as objects of research, from the collection of the Research Institute "Zhigulevsky Gardens" "The harvest of 2016 grown on the territory of the Samara region. For the study was obtained hydroalcoholic extract (1 : 1) at 37 °C for 2 hours. The analysis for the maintenance of the total number of phenolic compounds content of gallic acid, flavonoids catechin content, antioxidant capacity with use of free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), restoring force with method of FRAP (ferric reducing antioxidant power), the antioxidant activity in linoleic acid system. A significant number of methods to assess the antioxidant activity of the compounds according to the method systematically recording parameters used to determine antioxidant activity, including quantitative. As a result of a comparative study of the content of phenolic compounds, flavonoids, antiradical ability using the 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl reagent method, the FRAP restoring force with 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3 reagent, 5-triazine, antioxidant activity on the linoleic acid model for six varieties of apples were identified as leaders by individual indicators (phenols - apples of variety 23-20-50, flavonoids - apples of variety 23-20-50, anti-radical ability – apples of variety 23-25-51, FRAP-values – apples of variety 23-20-50, antioxidant ability – Syn up of Samara), and in general for the majority of indicators - apples of variety 23-20-50.

Keywords: antioxidant activity, apples, phenolic compounds, flavonoids.

References

1. Packer L., Sies H. *Oxidative stress and inflammatory mechanisms in obesity, diabetes, and the metabolic syndrome*. New York: CRC Press, 2008, 322 p.
2. Misharina T.A., Alipkina E.S., Fatkullina L.D. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2013, no. 1, pp. 183–189. (in Russ.).
3. Vardanian L.R., Airapetian S.A., Vardanian R.L., Avetisyan A.E. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2013, no. 3, pp. 143–148. (in Russ.).
4. Sazhina N.N., Lapshin P.V., Zagorskina N.V., Korotkova E.I., Misin V.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2013, no. 3, pp. 113–119. (in Russ.).
5. Sazhina N.N., Lapshin P.V., Zagorskina N.V., Misin V.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2015, no. 2, pp. 169–176. (in Russ.).
6. Miadelets M.A., Kukushkina T.A., Vorob'eva T.A., Shaldaeva T.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2014, no. 4, pp. 147–152. (in Russ.).
7. Kostikova V.A., Shaldaeva T.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ia*, 2016, no. 2, pp. 73–78. (in Russ.).
8. Kroon P.A., Clifford M.N., Crozier A., Day A.J., Donovan J.L., Manach C., Williamson G. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, vol. 80, no. 1, pp. 15–21.
9. Biedrzycka E., Amarowicz R. *Food Rev. Int.*, 2008, vol. 24, no. 2, pp. 235–251.
10. Lotito S.B., Frei B. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004, vol. 37, no. 2, pp. 251–258.
11. Haleagrahara N., Radhakrishnan A., Lee N., Kumar P. *Eur. J. Pharm.*, 2009, vol. 621, no. 1, pp. 46–52.
12. Deineka V.I., Solomatina N.M., Deineka L.A., Sorokopudov V.N., Makarevich S.L. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2014, no. 4, pp. 163–168. (in Russ.).
13. Masumoto S., Akimoto Y., Oike H., Kobori M. *J. Agr. and Food Chem.*, 2009, vol. 57, no. 11, pp. 4651–4656.
14. Mueller D.B., Koczwara K., Mueller A., Pallauf J., Ziegler A.-G., Bonifacio E. *Ann. Nutr. and Metab.*, 2009, vol. 54, no. 8, pp. 208–217.
15. Song Y., Manson J.E., Buring J.E., Sesso H.D., Liu S. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2005, vol. 24, no. 5, pp. 376–384.
16. Knekt P., Kumpulainen J., Järvinen R., Rissanen H., Heliövaara M., Reunanen A., Hakulinen T., Aromaa A. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, vol. 76, no. 8, pp. 560–568.
17. Nettleton J.A., Harnack L.J., Scrafford C.G., Mink P.J., Barraj L.M., Jacobs D.R. *J. Nutr.*, 2006, vol. 136, no. 12, pp. 3039–3045.
18. Bouaied J., Hoffmann L., Bohn T. *J. Med. Food.*, 2011, vol. 14, no. 12, pp. 1631–1637.
19. Serra A.T., Rocha J., Sepodes B., Matias A.A., Feliciano R.P., de Carvalho A., Bronze M.R., Duarte C.M.M., Fogueira M.E. *Food Chem.*, 2012, vol. 135, no. 4, pp. 2378–2386.
20. Karaman S., Tutem E., Baskan K.S., Apak R. *Food Chem.*, 2010, vol. 120, no. 4, pp. 1201–1209.
21. Duda-Chodak A., Tarko T., Satora P., Sroka P., Tuszyński T. *J. Fruit and Orn. Plant Res.*, 2010, vol. 18, no. 2, pp. 39–50.
22. Escobedo-Avallaneda Z., Cutiérriz-Urbe J., Valdez-Fragoso A., Torres J.A., Welti-Chanes J. *J. Funct. Foods.*, 2014, vol. 6, no. 4, pp. 470–481.
23. Vieira F.G.K., Borges G.S.C., Copetti C., Di Pietro P.F., Nunes E.C., Fett R. *Sci. Hort.*, 2011, vol. 128, no. 3, pp. 261–268.
24. Cheng V.J., Bekhit A.E.-D.A., McConnell M., Mros S., Zhao J. *Food Chem.*, 2012, vol. 134, no. 1, pp. 474–482.
25. Henríquez C., Almonacid S., Chiffelle I., Valenzuela T., Araya M., Cabezas L., Simpson R., Speisky H. *Chil. J. Agr. Res.*, 2010, vol. 70, no. 4, pp. 523–536.
26. Ventura J., Alarcon-Aguilar F., Roman-Ramos R., Campos-Sepulveda E., Reyes-Vega M.L., Boone-Villa V.D., Jasso-Villagomez E.I., Aguilar C.N. *Food Chem.*, 2013, vol. 136, no. 1, pp. 109–115.
27. Makarova N.V. *Antioksidantnye svoistva fruktov: faktory vliianiia, primeneniie, gotovyye produkty*. [Antioxidant properties of fruits: factors of influence, application, finished products]. Samara, 2015, 471 p. (in Russ.).

Received June 1, 2017

Revised February 26, 2018

For citing: Makarova N.V., Valiulina D.F., Azarov O.I., Kuznetsov A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 2, pp. 115–122. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018022205

* Corresponding author.