

УДК 663.031

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ЭКСТРАКЦИИ НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ДЛЯ ПЛОДОВ И ЦВЕТКОВ БОЯРЫШНИКА (*CRATAEGUS*)

© *А.Р. Валеева, Н.В. Макарова, Д.Ф. Валиулина**

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

Целью данной работы является определение наиболее оптимального метода экстрагирования плодов и цветков боярышника (*Crataegus*) с антиоксидантными свойствами. Цветки боярышника богаты химическими веществами (холин, эфирное масло, ацетилхолин, триметиламин, флавоновые гликозиды, кофейная, хлорогеновая, урсоловая и другие различные кислоты), а плоды боярышника состоят из жирного масла, тритерпеновых сапонинов, холина, ацетилхолина, дубильных веществ, сорбита и органических кислот. С целью определения наиболее оптимального метода экстрагирования комплекса веществ с антиоксидантными свойствами из экстрактов плодов и цветков боярышника, было изучено содержание сухих веществ, фенолов, флавоноидов, а также определена антиоксидантная активность с использованием двух методик: путем улавливания свободных радикалов и по методу FRAP (восстанавливающей силы). По всем показателям (содержание сухих веществ, фенолов, флавоноидов, антиоксидантная активность), изученным в работе, высокими значениями обладали цветки боярышника. В данной работе использованы три технологии экстрагирования: традиционная – настаивание (37 °С, 2 ч), и инновационные – с использованием микроволнового (800 Вт, 1 мин) и ультразвукового облучения (0.5 Вт, 2 ч). Из всех рассмотренных видов экстракции наиболее действенным и эффективным, по результатам экспериментов, является экстракция с использованием ультразвукового излучения.

Ключевые слова: *Crataegus*, плоды боярышника, цветки боярышника, экстрагирование, фенолы, флавоноиды, антирадикальная активность, восстанавливающая сила, УЗИ, МВ-излучение.

Работа выполнена в рамках государственного задания на фундаментальные исследования Самарского государственного технического университета № 0778-2020-0005.

Введение

Crataegus oxyacantha L. – это колючие листовые деревья, произрастающие в районах умеренного климата в Северном полушарии в Европе, Азии и Северной Америке, растущие до высоты 25–30 футов. Дерево является членом семейства *Rosaceae*. Осенью и весной на этих растениях расцветают большие пучки ароматных белых или розовых цветов, а осенью цветки превращаются в маленькие ярко-красные, яблокообразные плоды [1].

Сушеный боярышник традиционно используется в китайской медицине для улучшения деятельности пищеварительной системы и часто из него делают варенье, желе, конфеты или вино [2].

Использование боярышника [3] для регуляции сердечно-сосудистой системы появилось в европейской клинической практике в XVII в. и стало популярным в конце XIX – начале XX в. В Северной Америке

Валеева Айгуль Раисовна – студент кафедры технологии и организации общественного питания,
e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

Макарова Надежда Викторовна – доктор химических наук, профессор кафедры технологии и организации общественного питания, e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

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

боярышник использовался в кардиальной медицине с 1896 г. Препараты боярышника являются одними из бестселлеров среди медицинских препаратов на основе растительного сырья в Германии. Чай, приготовленный из листьев и цветков, продается в пакетиках; также в продаже существуют сухие и жидкие экстракты, настойки, мягкие экстракты и инъекционные формы.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Препарат из цветов боярышника имеет антиспазматическое, кардиотоническое, мочегонное и нервно-седативное свойства. Боярышник – самое ценное средство для улучшения работы сердечно-сосудистой системы. Благодаря высокому содержанию флавоноидов экстракты боярышника оказывают значительное влияние на стабильность коллагена, повышая целостность сосудов кровеносной системы.

Боярышник богат тритерпеновыми кислотами, такими как олеаноловая и урсоловая кислота; полифенолами, такими как эпикатехин, процианидин В₂, процианидин В₅, процианидин С₁, гиперозид, изокерцитрин и хлорогеновой кислотой. Боярышник имеет флавоноидные пигменты и процианидиновые пигменты в цветках, ягодах и листьях. Эти пигменты снижают артериальное давление и холестерин [4].

В статье [5] при экспериментальных исследованиях на крысах, получавших гиперлипидемическую диету, было выявлено, что экстракты боярышника предотвращают повышение уровня липидов в плазме (в том числе общий уровень холестерина, триглицеридов и LDL- и VLDL-фракций).

Листья, цветы и ягоды боярышника содержат различные биофлавоноидоподобные комплексы. Бифлавоноиды, обнаруженные в растениях боярышника, включают олигомерные процианидины (ОПС), витексин, кверцетин, гиперозид и другие химические компоненты, включая витамин С, сапонины, танины, кардиотонические амины (фенилэтиламин, тирамин, изобутиламин, О-метоксифенилэтиламин, холин и ацетилхолин). Полученное благоприятное воздействие этих соединений на сердечно-сосудистую систему привело к развитию технологии производства экстрактов листьев и цветов боярышника в Европе [6].

С целью изучения параметров содержания токсических элементов собирали листья *Crataegus oxyacantha* L. в отдаленных районах осенью 2011 года и весной 2012 года, которые были проанализированы с точки зрения элементного состава. Исследуемыми элементами были Ва, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sr и Zn. После сбора образцы сушили, гомогенизировали, а затем анализировали. Среди образцов 2012 года были обнаружены более высокие концентрации следующих элементов: Co, Cu, Mn, Ni и Zn. Более низкие концентрации зарегистрированы для Ва, Pb и Sr. Объем токсических элементов Cd и Cr статистически незначительно ниже в 2012 г. по сравнению с 2011 г. [7].

В статье ученых [8] объектом исследования были листья и цветы с дикорастущих растений боярышника (11 различных генотипов) из провинции Ирана, собранные в 2014 году. В ходе исследований были отобраны определенные генотипы на основе нескольких характеристик. Листья и цветки каждого генотипа сушили при комнатной температуре и измельчали для гомогенизации. Порошкообразные образцы (1 г) обрабатывали ультразвуком (в течение 30 мин при 25 °С) с использованием растворителя метанола/воды (80%, В/В), а затем фильтровали. В ходе анализов было выявлено, что существуют значительные отличия в показателях антиоксидантной активности и фенольных соединений у разных генотипов боярышника. Таким образом, полученные данные могут служить ценной информацией для отбора генотипов с высоким содержанием фенолов для последующего производства природных антиоксидантов и других биологически активных веществ, полезных в пищевых продуктах или фармацевтической промышленности.

Недавние испытания ученых Китая над плодами китайского боярышника [9] продемонстрировали: высокую эффективность в способности снижать уровень холестерина в крови; снижать риск заболевания сердечно-сосудистыми заболеваниями; проявлять противовоспалительную и противоопухолевую активность. В настоящее время только плоды *Crataegus pinnatifida* и *Crataegus pinnatifida* включены в китайскую фармакопею.

Многие дикие плоды боярышника обладают высоким питательным и функциональным потенциалом благодаря наличию химических веществ с биологическими свойствами. В работе [10] у плодов боярышника (*Crataegus monogyna* Jacq.) испанского происхождения были определены следующие биологически активные соединения: витамин С (аскорбиновая и дегидроаскорбиновая кислоты); общее количество фенольных соединений (состоящих в основном из фенольных кислот, флавонолов и антоцианов); антиоксидантная способность с помощью различных тестов (Folin-Ciocalteu, DPPH и FRAP). Все образцы получены из разных мест. В составе плодов одного и того же вида обнаружены высокие изменения в показателях. В плодах *Crataegus monogyna* найдено от 16 до 39 мг витамина С и 449–1438 мг общего содержания фенольных соединений, характеризующихся высоким содержанием фенольных кислот и флавонолов.

Целью исследования [11] была оценка возможности использования метанольного экстракта боярышника в качестве профилактического средства для лечения алкогольного опьянения. В ходе эксперимента группа крыс потребляла 35% раствор этанола в течение двенадцати недель. Введение в питание экстракта

боярышника снизило активность АСТ, ALT, γ -GT и АСР (при повреждении печени) с последующим снижением общего количества билирубина и увеличением запасов гликогена в печени. Полученные данные могут свидетельствовать о возможности использования экстракта боярышника в качестве альтернативного лечения повреждений печени в результате воздействия алкоголя.

Работа турецких ученых [12] была направлена на изучение антиоксидантной способности различных видов *Crataegus*, произрастающих в Турции. Листья и цветы растений изучались отдельно. Результаты исследований показали, что образцы, имеющие подобные морфологические характеристики, значительно отличаются по показателям антиоксидантной активности. Наиболее высокими показателями антиоксидантной активности обладал образец *Crataegus monogyna Jacq.*

В статье [13] изучалось влияние экстракта боярышника на экспрессию генов у личинки *Drosophila melanogaster*. Результаты показали, что экстракт боярышника продлевает срок жизни дрозифилы, при этом в зависимости от дозы экстракта 0.8 и 4 мг/см³ время выживания групп увеличивается с 52 дней до 56 и 62 дней соответственно.

В работе [14] ученые Болгарии отобрали *Crataegus monogyna* (боярышник) для своих экспериментов как один из наиболее распространенных лекарственных растений, который представляет значительный интерес в качестве естественного успокоительного средства и для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы. В ходе экспериментов объекты исследования показали высокое содержание антиоксидантных веществ.

Таким образом, несмотря на достаточно обширный экспериментальный материал, посвященный изучению химического состава растений рода *Crataegus*, большинство работ связано с исследованиями химического состава самих растений, преимущественно ее плодов. В то время как публикаций, связанных с изучением влияния технологии экстрагирования на антиоксидантные свойства, а также представляющих сравнительные исследования различных частей растений данных видов, недостаточно. В связи с этим целью данной работы явилось исследование антиоксидантных свойств экстрактов плодов и ягод боярышника, полученных различными методами экстрагирования.

В работе использованы три технологии экстрагирования: традиционная – настаивание (37 °С, 2 ч) и инновационные – с использованием микроволнового (800 Вт, 1 мин) и ультразвукового облучения (0.5 Вт, 2 ч). У полученных экстрактов (цветков и плодов боярышника) изучены следующие показатели: массовая доля растворенных сухих веществ, содержание фенолов, флавоноидов, антиоксидантная активность с использованием двух методик – улавливание свободных радикалов и восстанавливающая сила по методу FRAP.

Экспериментальная часть

Определение сухих веществ экстрактов. Массовую долю растворенных сухих веществ в экстрактах плодов и цветков боярышника определяют рефрактометрическим методом по ГОСТ ISO 2173-2013 «Продукты переработки фруктов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ». В ходе эксперимента температуру экстракта доводят до температуры +20 °С. Наносят 2–3 капли экстракта боярышника на неподвижную призму рефрактометра и накрывают подвижной призмой. Подводят линию, разделяющую темное и светлое поле в окуляре, точно на перекрестье в окошке окуляра, и считывают показатель массовой доли сухих веществ в исследуемом растворе. Измерение проводят трижды, а из полученных результатов выводят среднее арифметическое значение.

Метод приготовления экстрактов исследуемых образцов. Метод настаивания. Навески измельченных плодов и цветков боярышника по 3 г (для экстракта концентрацией 0.1 г/см³) помещают в колбы с притертой пробкой, добавляют 30 см³ смеси дистиллированной воды и водного этилового спирта (модуль 1 : 1), выдерживают в термостате при 37 °С в течение 2 ч при непрерывном перемешивании. Далее отделяют прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течение 15 мин при скорости 3000 об/мин.

Экстрагирование с использованием УЗИ (ультразвуковое исследование) излучения. Навески измельченных плодов и цветков боярышника по 3 г (для экстракта концентрацией 0.1 г/см³) помещают в колбы с притертой пробкой, добавляют 30 см³ смеси дистиллированной воды и водного этилового спирта (модуль 1 : 1), выдерживают при мощности 0.5 Вт в течение 2 ч. Далее отделяют прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течение 15 мин при скорости 3000 об./мин.

Экстрагирование с использованием микроволнового (МВ) излучения. Навески измельченных плодов и цветков боярышника по 3 г (для экстракта концентрацией 0.1 г/см³) помещают в колбы с притертой проб-

кой, добавляют 30 см³ смеси дистиллированной воды и водного этилового спирта (модуль 1 : 1), выдерживают в течение 1 мин при мощности 800 Вт. Далее отделяют прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течение 15 мин при скорости 3000 об/мин.

Получение концентрированного экстракта. Навески измельченных плодов и цветков боярышника 200 г помещают в колбу с притертой пробкой, добавляют 400 см³ водного этилового спирта (модуль 1 : 2), выдерживают при мощности 0.5 Вт, при температуре 37 °С в течение 12 ч при непрерывном перемешивании. Далее отделяют прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течении 15 мин при скорости 3000 об./мин. Концентрируют при температуре 50–55 °С при давлении 6.6±1.3 кПа до содержания сухих веществ: цветки боярышника – 23.30%, плоды боярышника – 19.20%.

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 [15]. Колориметрический метод определения общего содержания фенольных веществ основан на применении реактива Фолина. Под реактивом Фолина подразумевают реактив Folin-Ciocalteu, который готовят из: вольфрамата Na, молибдата Na, H₂O, 85%-ной H₃PO₄, HCl, сульфата Li и Br₂. Реакцию Фолина 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 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 спектрофотометре при длине волны 725 нм.

В стерильных пробирках приливают к 0.25 см³ готового экстракта плодов/цветков боярышника концентрацией 0.1 мг/см³, 0.25 см³ 50%-ного водного раствора реактива Folin-Ciocalteu, 0.50 см³ насыщенного раствора карбоната натрия и 4.00 см³ дистиллированной воды. В контрольную пробу приливают вместо экстракта 0.25 см³ дистиллированной воды. Смесь выдерживают 25 мин при 25 °С при постоянном помешивании для завершения реакции. Далее пробы центрифугируют 10 мин при скорости 2000 об./мин.

Содержание фенольных веществ в прозрачном растворе экстракта плодов/цветков боярышника определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре. Спектр поглощения снимают при длине волны 725 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения помещают контрольную пробу. Калькуляцию фенольных соединений в мг галловой кислоты (ГК)/100 г продукта проводят по калибровочной кривой.

Метод определения общего содержания флавоноидов. Исследования содержания флавоноидов проводят по методу [16] с модификацией для экстрактов плодов/цветков боярышника. В пробирки помещают 0.50 см³ экстракта плодов боярышника концентрацией 0.1 мг/см³, 2.50 см³ дистиллированной воды, 0.15 см³ раствора 5%-ного нитрита натрия. Выдерживают в течение 5 мин при 20–25 °С. Затем приливают 0.30 см³ 10%-ного хлорида алюминия (III), выдерживают в течение 5 мин при 20–25 °С. Добавляют 1.00 см³ 1 М гидроксида натрия и 5.00 см³ дистиллированной воды.

Содержание флавоноидов определяют спектрофотометрическим методом на спектрофотометре. Спектр поглощения снимают при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения помещают дистиллированную воду. Калькуляцию флавоноидов в мг катехина (К)/100 г продукта проводят по калибровочной кривой.

Метод определения радикалудерживающей способности с использованием реактива 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (DPPH-метод). Одним из способов оценки антиоксидантной активности является колориметрия свободных радикалов. Данный метод основан на реакции стабильного синтетического радикала DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразида), растворенного в этаноле, с образцом антиоксиданта, содержащегося в экстракте [17]. В результате восстановления свободного радикала DPPH антиоксидантами функциональных продуктов снижается пурпурно-синяя окраска реактива на желтую, так как происходит переход свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида, имеющего пурпурно-синюю окраску, в стабильную молекулу 2,2-дифенил-1-пикрилгидразина, который имеет желтую окраску. Существует два способа проведения эксперимента по данному методу – статический и динамический. Статический показывает, при какой концентрации экстракта наблюдается наилучшее ингибирование свободных радикалов. Динамический ха-

рактирует процесс ингибирования во времени и показывает время, которое необходимо для ингибирования радикалов DPPH антиоксидантами экстракта с концентрацией, при которой наблюдается наилучшее ингибирование свободных радикалов. Также, чтобы охарактеризовать антиоксидантную активность, существует параметр – E_{C50} – это та концентрация экстракта, при которой происходит 50%-ное ингибирование радикала DPPH антиоксидантом экстракта. Торможение реакций окислительного распада происходит тем быстрее и антиоксидантная активность образцов тем выше, чем ниже показатель E_{C50} .

В пробирки помещают 0.20 см³ экстракта плодов/цветков боярышника с различной концентрацией, 2.00 см³ дистиллированной воды, 2.00 см³ спиртового раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. В контрольную пробу по экстракту помещают вместо раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила дистиллированную воду. В контрольную пробу по раствору 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила приливают вместо экстракта дистиллированную воду. Смесь выдерживают в течение 30 мин при 20–25 °С в недоступном для света месте.

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

Метод определения железосвязывающей активности экстрактов (FRAP-метод). Исследование восстанавливающей силы было проведено по методу [18] с модификацией для экстрактов плодов/цветков боярышника. Подготавливают реактив FRAP: в колбу помещают 10,00 см³ ацетатного буфера pH 3.6, 1.00 см³ 20 мМ раствора хлорида железа (III), 1.00 см³ реагента 2,4,6-три-(2-пиридил)-1,3,5-триазина (TPTZ). Смесь выдерживают в термостате в течение 10 мин при температуре 37 °С при периодическом перемешивании.

В пробирки прибавляют 1.00 см³ реактива FRAP, 3.00 см³ дистиллированной воды, 0.10 готового экстракта плодов/цветков боярышника концентрацией 0.1 мг/см³. В контрольную пробу приливают вместо экстракта 0.10 см³ дистиллированной воды. Смесь выдерживают 4 мин при температуре 37 °С при периодическом перемешивании.

Определение железосвязывающей активности проводят спектрофотометрическим методом при длине волны 593 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения приливают дистиллированную воду. Определение железосвязывающей активности проводят по калибровочной кривой в ммоль Fe²⁺/1 кг исходного сырья.

Обсуждение результатов

Значения массовой доли растворенных сухих веществ цветков и плодов боярышника представлены на рисунке 1. Максимальные показатели растворимых сухих веществ были получены у концентрированного ультразвукового экстракта как у цветков боярышника (19.2%), так и у плодов боярышника (23.3%).

Важной составляющей проведенных исследований является определение общего содержания фенолов и флавоноидов [19]. Фенолы – это ароматические соединения, содержащие в своей молекуле бензольное ядро с одной или несколькими гидроксильными группами. Они встречаются в различных частях многих растений (в покровных тканях в плодах, проростках, листьях, цветках) и придают им окраску и аромат; играют важную роль в различных физиологических процессах, таких как, фотосинтез, дыхание, рост, устойчивость растений к инфекционным болезням, рост и репродукция; защищают растения от патогенных микроорганизмов и грибковых заболеваний.

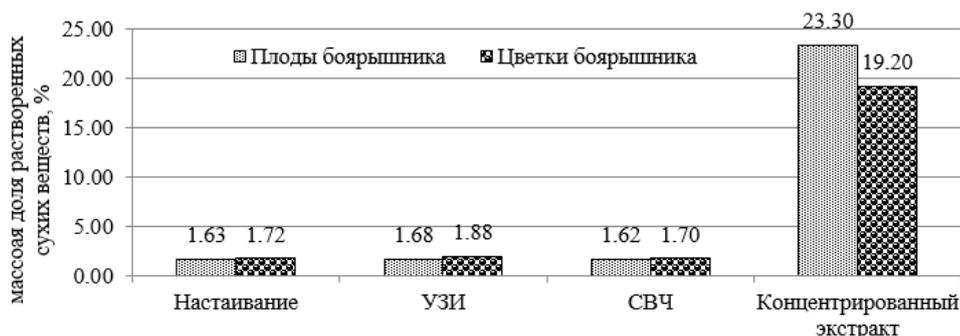


Рис. 1. Массовая доля растворимых сухих веществ в экстрактах цветов и плодов *Crataegus*, полученных по различным технологиям

Изучая данные общего содержания фенольных веществ (рис. 2), можно увидеть, что плоды и цветки боярышника разделились на две противоположенные группы:

1) самым низким показателем (630 мг ГК/100 г; 682 мг ГК/100 г) обладает СВЧ-экстракт плодов и цветков боярышника;

2) два вида экстракта (настаивание и УЗИ) находятся в пределах 843–869 мг ГК/100 г – цветки боярышника и в пределах 707–723 мг ГК/100 г – плоды боярышника;

3) концентрированный экстракт имеет высокие показатели у обоих образцов: 878 мг ГК/100 г – цветки боярышника и в 763 мг ГК/100 г – плоды боярышника.

Наивысшим показателем общего содержания фенолов в обоих видах экстрактов обладает концентрированный экстракт (цветки боярышника – 878 мг ГК/100 г; плоды боярышника – 763 мг ГК/100 г).

На рисунке 2 видно, что высокими показателями общего содержания фенолов плодов и цветков боярышника во всех видах экстрактов (настаивание, УЗИ и СВЧ) обладают цветки боярышника. Все значения общего содержания фенолов цветков боярышника превысили значения общего содержания фенолов плодов боярышника.

Именно класс флавоноидов обладает различными видами биологической активности, причем на значительном уровне [20]. Флавоноиды оказывают огромное влияние на растительный метаболизм. Часть из них – пигменты, благодаря которым растительные ткани приобретают многообразную окраску. Так, присутствие антоцианов предусматривает фиолетовую, красную или синюю окраску, а наличие халконов, флавонов, аурунов, флавонолов – желтую и оранжевую.

Из рисунка 3 наглядно видно, что экстракты, полученные с использованием технологии ультразвуковой обработки показали высокие значения общего содержания флавоноидов в обоих случаях (424 мг К/100 г (цветки); 194 мг К/100 г (плоды)); экстракты, полученные методами настаивания и СВЧ, показали самые низкие значения общего содержания флавоноидов из изученных. Самыми высокими показателями общего содержания флавоноидов обладают концентрированные экстракты (651 мг К/100 г – цветки боярышника; 223 мг К/100 г – плоды боярышника).

Анализируя данные по показателю общего содержания флавоноидов (рис. 3), можно отметить различия в значениях показателей в зависимости от технологий экстракции (значение общего содержания флавоноидов в экстрактах плодов и цветков боярышника различаются в 3 раза).

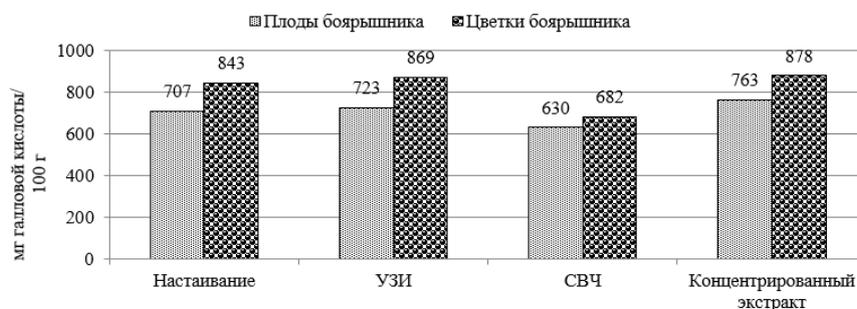


Рис. 2. Общее содержание фенолов в экстрактах цветов и плодов боярышника (*Crataegus*), полученных по различным технологиям

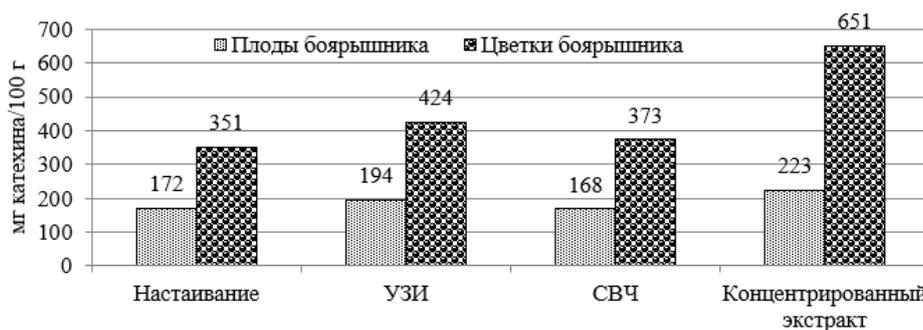


Рис. 3. Общее содержание флавоноидов в экстрактах цветов и плодов *Crataegus*, полученных по различным технологиям

При изучении показателей общего содержания фенолов и общего содержания флавоноидов можно сделать однозначный вывод, что цветки боярышника обладают более высоким уровнем общего содержания фенолов и флавоноидов. На рисунках 2 и 3 можно увидеть преимущество показателей цветков боярышника над показателями плодов боярышника.

Улавливание свободных радикалов является одним из важных свойств антиоксидантов [21], поэтому определение антиоксидантной активности включает в себя и определение антирадикального действия. Свободные радикалы (оксиданты, окислители) – это частицы (атомы, молекулы или ионы), как правило, неустойчивые, содержащие один или несколько неспаренных электронов на внешней электронной оболочке, поэтому их молекулы обладают невероятной химической активностью. У них есть свободное место для электрона и они всегда стремятся отнять полученные у других молекул, тем самым окисляя любые соединения, с которыми соприкасаются. В результате присутствия опасного количества свободных радикалов может нарушиться структура белков, жиров, витаминов и т.д. Свободные радикалы провоцируют в организме основное большинство процессов, похожих на настоящее ржавление или гниение – разложение.

В нашей работе использована методика исследования антирадикальной активности по способности улавливать свободный радикал – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил. Анализ результатов уровня такого показателя как E_{c50} , цветков и плодов боярышника представлен на рисунке 4.

В двух видах экстрактов (цветках и плодах) концентрированный экстракт проявляет более высокую антирадикальную активность (1.2 мг/см^3 – цветки; 8.0 мг/см^3 – плоды). Результаты антирадикальной активности экстрактов боярышника методом СВЧ и настаивания незначительно отличаются друг от друга: цветки – $3.3\text{--}3.5 \text{ мг/см}^3$; плоды – $29.0\text{--}29.5 \text{ мг/см}^3$. УЗИ-экстракты дают наиболее эффективные показатели антирадикальной активности: цветки – 2.7 мг/см^3 ; плоды – 14.5 мг/см^3 .

В случае показателя антирадикальной активности уровни результатов плодов и цветков боярышника различаются в 7–8 раз. Более высокие показатели наблюдаются у плодов боярышника.

Показатель восстанавливающей силы характеризует способность антиоксидантов тормозить катализирующее действие ионов металлов в реакциях окисления [22]. Все экстракты цветков боярышника можно выстроить в ряд по убыванию значения FRAP (рис. 5): самые высокие показатели у УЗИ-экстракта ($20.7 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$) и концентрированного экстракта ($19.71 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$); СВЧ-экстракт и экстракт, полученный методом настаивания, показал средние значения ($16.08 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$ и $14.76 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$ соответственно). Далее по убыванию следуют значения FRAP для экстрактов плодов боярышника (рис. 5): самый высокий показатель (среди плодов боярышника) – у концентрированного экстракта ($14.76 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$); у УЗИ-экстракта, СВЧ-экстракта и экстракта, полученного методом настаивания, показатели находятся на одном уровне ($12.92 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$, $12.06 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$ и $12.78 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$ соответственно).

Из рисунка 5 следует, что FRAP-значения цветков боярышника выше, чем у плодов боярышника. Также можно увидеть, что метод УЗИ-экстракции у цветков боярышника дает наилучшие результаты ($20.70 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$) по сравнению с другими видами технологии экстракции. У плодов боярышника высокие FRAP-значения показал концентрированный экстракт ($19.71 \text{ ммоль Fe}^{2+}/1 \text{ кг}$).

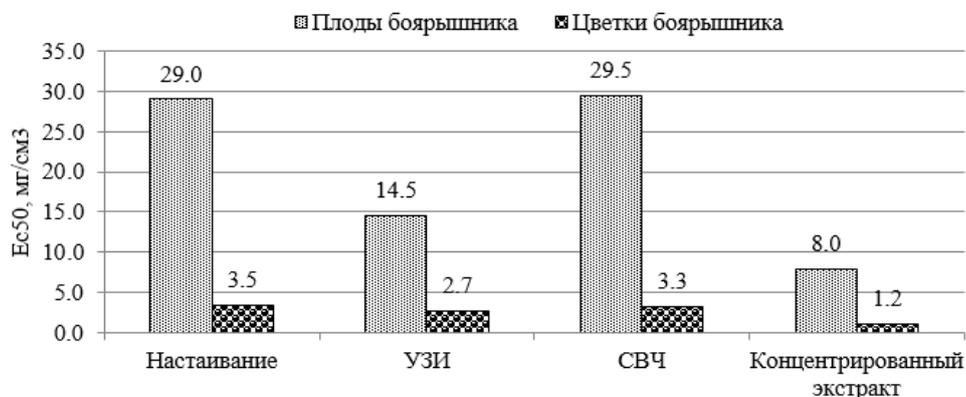


Рис. 4. Антирадикальная активность в экстрактах цветов и плодов *Crataegus*, полученных по различным технологиям

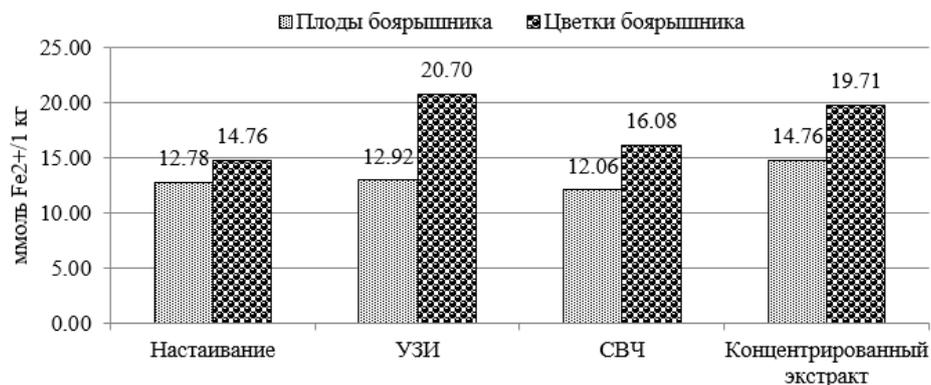


Рис. 5. FRAP-значение исследуемых в экстрактах цветов и плодов *Crataegus*, полученных по различным технологиям

Вывод

Таким образом, для экстрактов цветков и плодов боярышника изучены такие показатели, как содержание сухих веществ, фенолов, флавоноидов, антиоксидантная активность с использованием двух методик (улавливание свободных радикалов и восстанавливающая сила по методу FRAP) с целью определения наиболее оптимального метода экстрагирования комплекса веществ с антиоксидантными свойствами. В данной работе использованы три технологии экстрагирования: традиционная – настаивание (37 °С, 2 ч) и инновационные – с использованием микроволнового и ультразвукового облучения. Анализируя полученные данные, можно сделать следующие выводы:

1. Максимальной антиоксидантной активностью характеризовались цветки боярышника по сравнению с другими частями растения.
2. Наиболее высокий уровень антиоксидантов отмечался в концентрированных экстрактах (полученных методом вакуумного концентрирования при пониженных температурах из экстракта, полученного методом настаивания) как плодов боярышника, так и цветков боярышника.
3. Выявлено, что ультразвуковая, микроволновая экстракция позволяют увеличить антиоксидантные свойства получаемых экстрактов, однако наибольшее увеличение выхода фенольных веществ по сравнению с классическим методом настаивания наблюдается при использовании УЗ-обработки.
4. Сравнительный анализ содержания антиоксидантов и антиоксидантной активности экстрактов различных частей растений боярышника показал, что наиболее перспективными для включения в рацион питания, или в качестве сырья для разработки БАДов и продуктов функционального питания являются концентрированные экстракты цветков боярышника, полученных методом УЗ-обработки, которые характеризовались более высоким уровнем биологически активных компонентов с антиоксидантным действием.

Список литературы

1. Jie W., Xingjiang X., Bo F. Effect of *Crataegus* usage in cardiovascular disease prevention: an evidence-based approach // Hindawi. 2013. Article 149363. DOI: 10.1155/2013/149363.
2. Emilie S., Stephen D. Health effects of hawthorn // Am. Family Phys. 2010. Vol. 81. N4. Pp. 465–468.
3. Engels G., Brinckmann J. *Crataegus monogyna*, *C. laevigata* // Am. Bot. Council. 2012. N96. Pp. 1–6. DOI: 10.1007/s00606-004-0228-x.
4. Lakshmi T., Geetha R.V., Anitha R. *Crataegus oxyacantha* Linn. commonly known as Hawthorn-A Scientific Review // Inter. J. Pharm. Tech. Res. 2012. Vol. 4. N1. Pp. 458–465. DOI: 10.1007/s11738-014-1769-4.
5. Pittler M.H., Schmidt K. *Crataegus oxyacantha* (Hawthorn) // Alternative Med. Rev. 2010. Vol. 15. N2. Pp. 164–167.
6. Kumar D., Arya V., Bhat Z.A., Khan N.A., Prasad D.N. The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives // Braz. J. Pharm. 2012. Vol. 22. N5. Pp. 1187–1200. DOI: 10.3390/foods7050066.
7. Zeiner M., Juranović I.C., Mihajlov K.D., Stinger G. Determination of selected toxic elements in leaves of white hawthorn grown in a remote area // Web of Conferences. 2013. N1. Pp. 1–3. DOI: 10.1051/e3sconf/20130134003.
8. Alirezalu A., Salehi P., Ahmadi N., Sonboli A., Aceto S., Maleki H.H., Ayyari M. Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (*Crataegus* spp.) from different regions of Iran // Int. J. Food Prop. 2018. Vol. 21. N1. Pp. 452–470. DOI: 10.1080/10942912.2018.1446146.

9. Jurikova T., Sochor J., Rop O., Mlcek J., Balla S., Szekeres L., Adam V., Kizek R. Polyphenolic profile and biological activity of Chinese Hawthorn (*Crataegus pinnatifida* BUNGE) fruits // *Molecules*. 2012. N17. Pp. 14490–14509. DOI: 10.3390/molecules171214490.
10. Ruiz-Rodríguez B.M., Ancos B., Sánchez-Moreno C., Fernández-Ruiz V., Sánchez-Mata M.C., Cámara M., Tardío J. Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants // *Fruits*. 2014. Vol. 69. Pp. 61–73. DOI: 10.1051/fruits/2013102.
11. Martínez-Rodríguez J.L., Reyes-Estrada C.A., Gutiérrez-Hernández R., López J.A. Antioxidant, hypolipidemic and preventive effect of Hawthorn (*Crataegus oxyacantha*) on alcoholic liver damage in rats // *J. Pharm. and Phytotherapy*. 2016. Vol. 8. N11. Pp. 193–202. DOI: 10.5897/JPP2016.0428.
12. Özyürek M., Bener M., Güçlü K., Dönmez A.A., Süzgeç-Selçuk S., Pırıldar S., Meriçli A.H., Apak R. Evaluation of antioxidant activity of *Crataegus* species collected from different regions of Turkey // *Rec. Nat. Prod.* 2012. Vol. 6. N3. Pp. 263–277. DOI: 10.25092/baunfbed.370594.
13. Zhang Y., Shen T., Liu S., Zhao J., Chen W., Wang H. Effect of hawthorn on *Drosophila Melanogaster* antioxidant-related gene expression // *Trop. J. Pharm. Res.* 2014. Vol. 13. N3. Pp. 353–357. DOI: 10.4314/tjpr.v13i3.6.
14. Mitev D., Vlachov E., Vlachov T., Peshev D., Hristova-Avakumova N., Hadjimitova V. Effect of nanofiltration on the antioxidant properties of *Crataegus monogyna* curative extracts // *Bulg. J. Phys.* 2016. N43. Pp. 311–319.
15. Miguel M.G., Nunes S., Dandlen S.A., Cavaco A.M., Antunes M.D. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal // *Food Sci. and Techn. (Campinas)*. 2014. Vol. 34. N1. Pp. 16–23. DOI: 10.21275/ART20162371.
16. Figueroa L.A., Navarro L.B., Vera M.P., Petricevich V.L. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents, and cytotoxicity evaluation of *Bougainvillee xbuttiana* // *Int. J. Pharm. and Pharmac. Sci.* 2014. Vol. 6. N5. Pp. 497–502. DOI: 10.12691/ajfst-6-5-6.
17. Rabeta M.S., Lin S.P. Effects of different drying methods on the antioxidant activities of leaves and berries of *Cayratia trifolia* // *Sans Malay*. 2015. Vol. 44. N2. Pp. 275–280. DOI: 10.17576/jsm-2015-4402-16.
18. Freedes C., Montenegro G., Zoffoli J.P., Gómez M., Robert P. Polyphenol content and antioxidant activity of Maqui (*Aristotelia chilensis* [Molina] Stuntz) during fruit development and maturation in central Chile // *Chilean J. Agr. Res.* 2012. Vol. 72. N4. Pp. 582–589.
19. Moharram H.A., Youssef M.M. Methods for determining the antioxidant activity: a review // *Alex. J. Fd. Sci. & Technol.* 2014. Vol. 11. N1. Pp. 31–42.
20. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment // *J. Molecules*. 2014. N19. Pp. 16240–16265. DOI: 10.3390/molecules191016240.
21. Kunwar A., Priyadarsini K.I. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health // *J. Med. Allied. Sci.* 2011. N1(2). Pp. 53–60.
22. Sugiyama R., Oguni K., Ohashi S. Study on the levitation and restoring force characteristics of the improved hts-permanent magnet hybrid magnetic bearing // *Phys. Pro.* 2014. N58. Pp. 282–285.

Поступила в редакцию 13 февраля 2019 г.

После переработки 26 сентября 2019 г.

Принята к публикации 27 сентября 2019 г.

Для цитирования: Валеева А.Р., Макарова Н.В., Валиулина Д.Ф. Сравнительная характеристика влияния технологии экстракции на антиоксидантные свойства для плодов и цветков боярышника (*Crataegus*) // *Химия растительного сырья*. 2020. №1. С.157–166. DOI: 10.14258/jcrpm.2020015168.

Valeeva A.R., Makarova N.V., Valiulina D.F.* COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE INFLUENCE OF TECHNOLOGY OF EXTRACTION ON ANTIOXIDANT PROPERTIES FOR THE FRUIT AND FLOWERS OF THE TENDER (*CRATAEGUS*)

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

The purpose of this work is to determine the most optimal method for extracting hawthorn fruits and flowers (*Crataegus*) with antioxidant properties. Hawthorn rich in chemicals (choline, essential oil, acetylcholine, trimethylamine, flavone glycosides, caffeic, chlorogenic, ursolic and other various acids) and hawthorn fruit consist of fatty oil, triterpene saponins, choline, acetylcholine, tannins, sorbitol and organic acids. In order to determine the most optimal method for extracting a complex of substances with antioxidant properties from hawthorn fruit and flower extracts, the content of dry substances, phenols, flavonoids was studied, and antioxidant activity was determined using two methods: by trapping free radicals and by using the FRAP (restoring force) method. By all indicators (the content of dry substances, phenols, flavonoids, antioxidant activity), studied in the work, hawthorn flowers had high values. In this work, three extraction technologies were used: traditional – infusion (37 °C, 2 h), and innovative – using microwave (800 W, 1 min) and ultrasonic irradiation (0.5 W, 2 h). Of all the types of extraction considered, the most efficient and effective, according to the results of experiments, is extraction using ultrasonic radiation.

Keywords: *Crataegus*, hawthorn fruits, hawthorn flowers, extraction, phenols, flavonoids, anti-radical activity, regenerative force, ultrasound, MW radiation.

References

1. Jie W., Xingjiang X., Bo F. *Hindawi*, 2013, article 149363. DOI: 10.1155/2013/149363.
2. Emilie S., Stephen D. *Am. Family Phys.*, 2010, vol. 81, no. 4, pp. 465–468.
3. Engels G., Brinckmann J. *Am. Botan. Council*, 2012, no. 96, pp. 1–6. DOI: 10.1007/s00606-004-0228-x.
4. Lakshmi T., Geetha R.V., Anitha R. *Inter. J. Pharm. Tech. Res.*, 2012, vol. 4, no. 1, pp. 458–465. DOI: 10.1007/s11738-014-1769-4.
5. Pittler M.H., Schmidt K. *Alternative Med. Rev.*, 2010, vol. 15, no. 2, pp. 164–167.
6. Kumar D., Arya V., Bhat Z.A., Khan N.A., Prasad D.N. *Braz. J. Pharm.*, 2012, vol. 22, no. 5, pp. 1187–1200. DOI: 10.3390/foods7050066.
7. Zeiner M., Juranović I.C., Mihajlov K.D., Stinger G. *Web of Conferences*, 2013, no. 1, pp. 1–3. DOI: 10.1051/e3sconf/20130134003.
8. Alirezalu A., Salehi P., Ahmadi N., Sonboli A., Aceto S., Maleki H.H., Ayyari M. *Int. J. Food Prop.*, 2018, vol. 21, no. 1, pp. 452–470. DOI: 10.1080/10942912.2018.1446146.
9. Jurikova T., Sochor J., Rop O., Mlcek J., Balla S., Szekeres L., Adam V., Kizek R. *Molecules*, 2012, no. 17, pp. 14490–14509. DOI: 10.3390/molecules171214490.
10. Ruiz-Rodríguez B.M., Ancos B., Sánchez-Moreno C., Fernández-Ruiz V., Sánchez-Mata M.C., Cámara M., Tardío J. *Fruits*, 2014, vol. 69, pp. 61–73. DOI: 10.1051/fruits/2013102.
11. Martínez-Rodríguez J.L., Reyes-Estrada C.A., Gutiérrez-Hernández R., López J.A. *J. Pharm. and Phytotherapy*, 2016, vol. 8, no. 11, pp. 193–202. DOI: 10.5897/JPP2016.0428.
12. Özyürek M., Bener M., Güçlü K., Dönmez A.A., Süzgeç-Selçuk S., Pırıldar S., Meriçli A.H., Apak R. *Rec. Nat. Prod.*, 2012, vol. 6, no. 3, pp. 263–277. DOI: 10.25092/baunfbed.370594.
13. Zhang Y., Shen T., Liu S., Zhao J., Chen W., Wang H. *Trop. J. Pharm. Res.*, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 353–357. DOI: 10.4314/tjpr.v13i3.6.
14. Mitev D., Vlachov E., Vlachov T., Peshev D., Hristova-Avakumova N., Hadjimitova V. *Bulg. J. Phys.*, 2016, no. 43, pp. 311–319.
15. Miguel M.G., Nunes S., Dandlen S.A., Cavaco A.M., Antunes M.D. *Food Sci. and Techn. (Campinas)*, 2014, vol. 34, no. 1, pp. 16–23. DOI: 10.21275/ART20162371.
16. Figueroa L.A., Navarro L.B., Vera M.P., Petricevich V.L. *Int. J. Pharm. and Pharmac. Sci.*, 2014, vol. 6, no. 5, pp. 497–502. DOI: 10.12691/ajfst-6-5-6.
17. Rabeta M.S., Lin S.P. *Sans Malay.*, 2015, vol. 44, no. 2, pp. 275–280. DOI: 10.17576/jsm-2015-4402-16.
18. Freedee C., Montenegro G., Zoffoli J.P., Gómez M., Robert P. *Chilean J. Agr. Res.*, 2012, vol. 72, no. 4, pp. 582–589.
19. Moharram H.A., Youssef M.M. *Alex. J. Fd. Sci. & Technol.*, 2014, vol. 11, no. 1, pp. 31–42.
20. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. *J. Molecules*, 2014, no. 19, pp. 16240–16265. DOI: 10.3390/molecules191016240.
21. Kunwar A., Priyadarsini K.I. *J. Med. Allied. Sci.*, 2011, no. 1(2), pp. 53–60.
22. Sugiyama R., Oguni K., Ohashi S. *Phys. Pro.*, 2014, no. 58, pp. 282–285.

Received February 13, 2019

Revised September 26, 2019

Accepted September 27, 2019

For citing: Valeeva A.R., Makarova N.V., Valiulina D.F. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 157–166. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020015168.

* Corresponding author.