



СРАВНИТЕЛНА ХАРАКТЕРИСТИКА НА ФЛАВОНОЛИ И ФЕНОЛНИ КИСЕЛИНИ В ЕКСТРАКТИ ОТ ПЛОДОВЕ И ЛИСТА НА ЧЕРВЕНА БОРОВИНКА (*VACCINIUM VITIS-IDEAE* L)
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF FLAVONOLS AND PHENOLIC ACIDS IN EXTRACTS OF CRANBERRY (*VACCINIUM VITIS-IDEAE* L) FRUITS AND LEAVES

Кр. Николова^{1*}, Д. Бухалова², Ил. Милкова-Томова², Й. Алексиева², О. Мацикова³
K. Nikolova^{1*}, D. Buhalova², Il. Milkova-Tomova², J. Alexieva², O. Macikova³

¹Аграрен университет – Пловдив

²Университет по хранителни технологии – Пловдив

³МГУП – Могилев, Беларус

¹Agricultural University – Plovdiv

²University of Food Technologies – Plovdiv

³MGUP – Mogilev, Belarus

*E-mail: kr.nikolova@abv.bg

Резюме

Сравнени са стойностите на флавоноли и фенолни киселини в ацетонови екстракти от плодове и листа на червени боровинки, събирани през април и юли в региона на Велинград. Флавонолите (кверцетин, рутин, нарингин и мирицитин) и фенолните киселини са определени на хроматографска система Agilent Technologies 1220 infinity (САЩ). Установено е нарастване на съдържанието на кверцетин и нарингин в екстрактите от листа в сравнение с тези от плодове, събирани през един и същи месец. С увеличаването на вегетационния период съдържанието на нарингин и мирицитин нараства, докато съдържанието на другите флавоноли намалява. В екстрактите от листа на червена боровинка с най-високо съдържание са ваниловата киселина (от $805.7 \pm 21.07 \mu\text{g.g}^{-1}$ до $1355.3 \pm 14.58 \mu\text{g.g}^{-1}$), следвана от хлорогеновата (от $442.9 \pm 5.12 \mu\text{g.g}^{-1}$ до $528.5 \pm 17.06 \mu\text{g.g}^{-1}$) и кафеената (от $488 \pm 8.67 \mu\text{g.g}^{-1}$ до $229 \pm 1.45 \mu\text{g.g}^{-1}$).

Abstract

The values of flavanols and phenolic acids in acetone extracts from cranberries and leaves collected in April and July in the region of Velingrad were compared. The flavanols and phenolic acids were determined by means of the Agilent Technologies 1220 infinity (USA) chromatography system. A substantial increase in the amount of Quercetin and Naringin in the extract of the leaves was established in comparison with that of the fruit, both in the same month. In the progress of the growing season, the contents of Naringin and Myricetin increased, while the content of all the other flavanols decreased. Regarding the phenolic acids, a considerable increase in the content of gallic, chlorogenic (from $442.9 \pm 5.12 \mu\text{g.g}^{-1}$ to $528.5 \pm 17.06 \mu\text{g.g}^{-1}$), caffeic – from $488 \pm 8.67 \mu\text{g.g}^{-1}$ to $229 \pm 1.45 \mu\text{g.g}^{-1}$ and vanilla (from $805.7 \pm 21.07 \mu\text{g.g}^{-1}$ to $1355.3 \pm 14.58 \mu\text{g.g}^{-1}$) acids was observed in the extracts of cranberry leaves.

Ключови думи: червени боровинки, фенолни киселини, флавоноли, ацетонови екстракти.

Key words: cranberry, phenolic acids, flavonols, acetone extracts.

ВЪВЕДЕНИЕ

Изследвани са (Denev et al., 2010; Vatem et al., 2005; Lee et al., 2002; Kalkopen & Holpa, 2001; Krachanova et al., 2008) фенолни киселини, флавоноли и антиоксиданти в плодове (арония, червена и черна боровинка, ягода, малина, къпина и др.). В литературата отсъстват данни относно съдържанието на фенолни съединения в ацетонови екстракти от листа на червената боровинка (*Vaccinium vitis-idaea* L.) при различни вегетативни периоди, като не е правен сравнителен анализ със стойностите им в плода.

Ролята на фенолните съединения за растенията се разглежда в много насоки. Синтезът им е най-вече генетично предопределен, но се влияе и от факторите на околната среда. Изследвания с различни видове растения демонстрират завишена активност на ензима ФАЛ при дефицит от хранителни вещества за растението, излагане на слънчева светлина, както и фунгицидна атака (Taiz & Zeiger, 1998). Благодарение на цветните си характеристики, фенолните съединения могат да привличат животните във връзка с опрашването и разпространението на семената, но се счита,

че могат и да ги отблъскват (Stintzing & Carle, 2004; Delgado-Vargas et al., 2000). Фактът, че всички фенолни съединения имат максимум на абсорбция в ултравиолетовата част на спектъра (особено в UV-B – 280–320 nm, а някои и в UV-A – 320–400 nm), както и това че са концентрирани в епидермалните слоеве на растенията, е доказателство за тяхната сканираща роля по отношение на вредните слънчеви лъчи. В някои растения се срещат високи концентрации на фенолни съединения и в корените, както и в някои кореноплодни, което предполага ролята им като транспортно средство за монозахариди или осморегулатори по време на прорастването или наличието на ниски температури. Разглеждат се и други функции на фенолните съединения, като се счита, че една от основните, дължаща се на високата им антиоксидантна активност, е защитата на растенията от окисление с цел нормален физиологичен статус на тъканите, директно или индиректно засегнати от биотичен или абиотичен стрес фактор (Aherne & O'Brien, 2002).

Антиоксидантният ефект на флавоноидите е по-мошен от класическите антиоксиданти – витамини С, Е и бета-каротин, и се дължи на следните механизми: 1. Предотвратяват образуването на свободни радикали, като хелират тежките метални йони, които причиняват оксидативния стрес. 2. Улавят свободните радикали и образуват по-слабо активни съединения, които се подлагат на редукция. 3. Катализират процеса на неутрализирането на свободните радикали до неутрални продукти. Флавоноидите инхибират и активността на ензимите от каскадата на арахидоновата киселина – лирооксигеназа, циклооксигеназа, фосфолипаза А2, потискат освобождаването на лизозомни ензими и хистамин от мастоцитите, което обуславя и противовъзпалителния им ефект (Price, 1994).

Целта на настоящата работа е да се направи сравнителна характеристика на съдържанието на флавоноли и фенолни киселини в ацетонови екстракти от свежи плодове и листа на червена боровинка, като се проследи влиянието на вегетационния период върху показателите.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

За провеждане на изследванията са използвани боровинки от района на Велинград в технологична зрялост. Събрани са листа от червени боровинки от същия регион през два различни вегетационни периода – месец април и юли. Приготвени са ацетонови екстракти от плода и листата в съотношение 1 g продукт в 10 ml ацетонитрил.

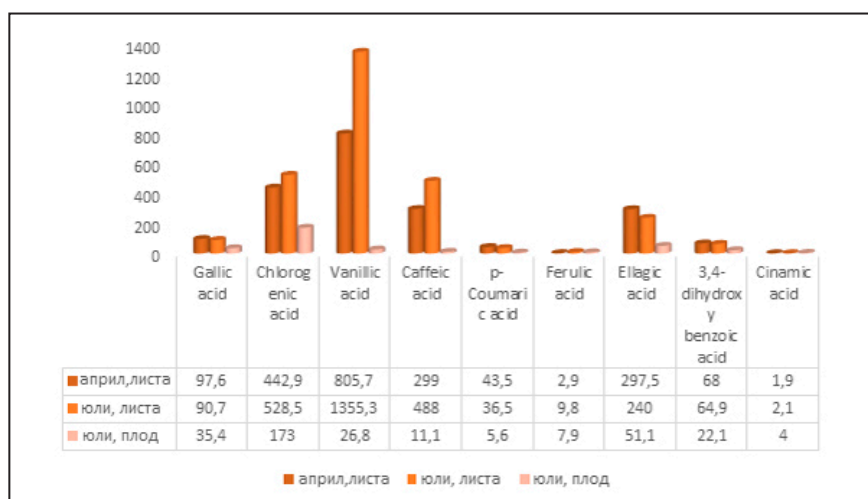
Флавонолите (кверцетин, рутин, нарингин и мирицитин) и фенолните киселини са определени на хроматографска система Agilent Technologies 1220 infinity (САЩ) и колона - Agilent HC - C 18 (2) при дължина на вълната $\lambda = 280$ nm. При определяне на флавоноидите е използвана елуираща система MeOH : 0,01M лимонена киселина (52:48) със скорост 0,6 ml/min и температура 25°C, а при определяне на фенолните киселини е използвана елуираща система 0,5% CH₃COOH: CH₃CN (80:20), 0,8 ml/min при 25°C. Представени са средните стойности от три независими повторения на опита, като за всеки от резултатите са получени средни стандартни отклонения.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Установени са стойностите на галовата, хлорогеновата, ваниловата, кафеената, кумаровата, феруловата и 3,4-бензоената киселина. На фигура 1 са представени диаграмите за съдържанието на основните фенолни киселини в ацетонови екстракти от свежи плодове и листа на червена боровинка за двата вегетативни периода.

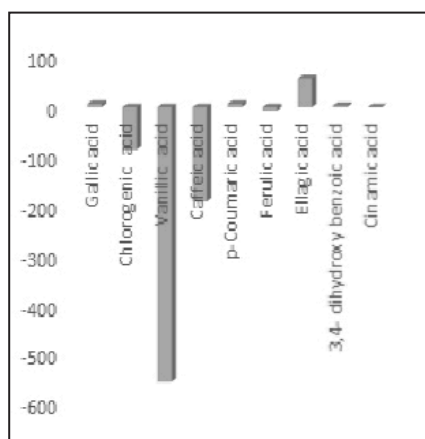
Стойностите на разглежданите киселини в ацетоновите екстракти от свежи плодове на червена боровинка са значително по-ниски, като най-високо е съдържанието на хлорогеновата киселина ($173 \pm 4.07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Екстрактите от плода са по-бедни на фенолни киселини в сравнение с тези на листата, събрани през същия период. Високо е съдържанието и на галовата киселина в екстрактите от плода. Подобен факт е наблюдаван при екстракти от други горски плодове - малини и къпини (Daniel et al., 1989; Hollman, Trijp, Buysman, 1993). В екстрактите от листа на червена боровинка с най-високо съдържание са ваниловата киселина (от $805.7 \pm 21.07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ до $1355.3 \pm 14.58 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), следвана от хлорогеновата (от $442.9 \pm 5.12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ до $528.5 \pm 17.06 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) и кафеената (от $488 \pm 8.67 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ до $229 \pm 1.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Потърсена е зависимост между съдържанието на фенолни киселини от вегетационния период на развитие на листата и между стойностите им в плода и листата (фиг. 2). Най-съществено зависят от вегетационния период хлорогеновата, ваниловата и кафеената фенолна киселина, като стойностите им в екстрактите от листа през месец юли са най-високи. Съдържанието на галова киселина в същите екстракти е най-високо през месец април. Вегетационният период не оказва влияние върху съдържанието на всички останали киселини. В редица изследвания (Harbone, 1988; Machix, Fleuriet, Billot, 1990) е показано, че при горските плодове съдържанието на фенолни киселини съществено зависи от физиологичното

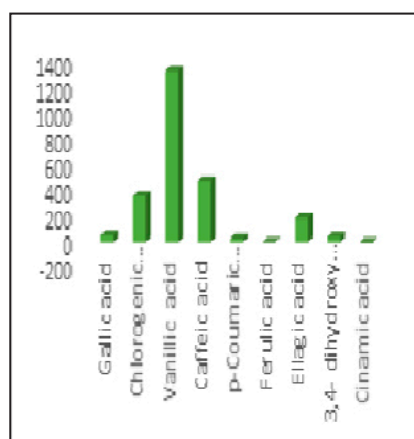


Фиг. 1. Съдържание на фенолни киселини в ацетонови екстракти от свежи плодове и листа на червена боровинка

Fig. 1. Content of phenolic acids in acetone extracts from fruits and leaves of cranberries



а) Екстракти от листа (април и юли)
Extracts from leaves (april and july)



б) Екстракти от плод - листа (юли)
Extracts from fruits-leaves (july)

Фиг. 2. Разлики в съдържанието на фенолните киселини в екстрактите през различни периоди от вегетационното развитие

Fig. 2. Differences between content of phenolic acids in extracts at different growing seasons

състояние на плода, което е в резултат на равновесието между биосинтеза и фенолния метаболизъм (количество ензими, регулация на ензимната активност).

Доказано е също, че съдържанието на фенолните киселини в неузрели плодове е по-голямо в сравнение с това през по-късни периоди от развитието им (Britton, 1983; Daniel et al., 1989). Подобен факт се наблюдава при ацетоновите екстракти от листа на червена боровинка.

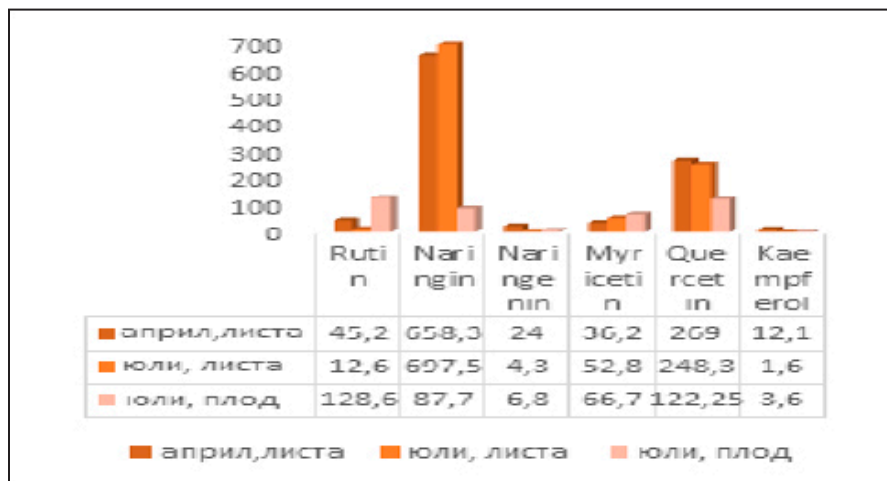
Установено е, че хидрокси-бензоената киселина не се променя при узряването на горски плодове (Stöhr, Herrmann, 1975a). Това се потвърждава и от настоящия експеримент.

Направената сравнителна характеристика на съдържанието на фенолни киселини (фиг. 2) в екстракти от листа и плодове на червена боровинка от месец юли показва по-високо съдържание на хлорогенова, ванилова, кафеена и галова киселина в листата.

От данните се вижда, че фенолните киселини в екстрактите от листа са с по-високи стойности в сравнение със стойностите в екстрактите от плодове на червена боровинка през месец юли.

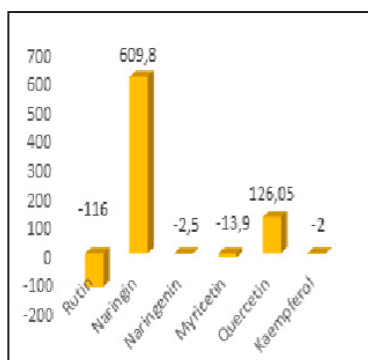
Изследвано е и съдържанието на флавоноли в екстракти от листа и плод на червена боровинка през различните периоди от развитието. То има съществено значение, защото те са свързани с антиоксидантната активност на продуктите. Екстрактите от червена боровинка се оказват сравнително богати на флавоноли, най-съществена роля от които имат рутинът, нарингинът и кверцетинът.

Ацетоновите екстракти от листа са най-богати на нарингин, кверцетин и рутин, докато в тези от свежи плодове с най-високо съдържание са рутинът и кверцетинът. Съдържанието на флавонолите с напредване на вегетационния период на листата намалява в екстрактите, с изключение на нарингина и мирицитина (фиг. 4). Нарингинът и кверцетинът в екстрактите от плодове са в по-малко количество в сравнение с тези от листа през месец юли. Според литературни данни (Stöhr & Herrmann, 1975a) съдържанието на мирицитина и отчасти на кверцетина нараства по време на узряването на горски плодове като къпина и черна боровинка. Подобна тенденция с напредване на вегетационния период се наблюдава и при листата от червена боровинка в настоящия експеримент.

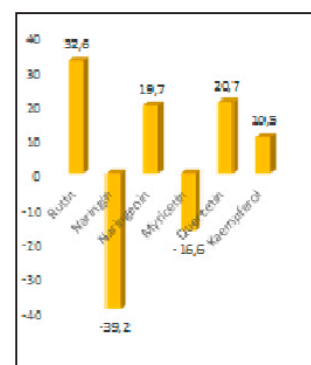


Фиг. 3. Съдържание на флавоноли в ацетонови екстракти от плодове и листа на червена боровинка

Fig. 3. Content of flavanols in acetone extracts from fruits and leaves of cranberries



а) Екстракти от листа на червена боровинка (април и юли)
Extracts from leaves from cranberries (april and july)



б) Екстракти от плод - листа (юли)
Extracts from fruits - leaves (july)

Фиг. 4. Разлики в съдържанието на флавоноли в екстрактите в зависимост от вегетативното развитие

Fig. 4. Differences between content of flavanols in extracts at different growing seasons



ИЗВОДИ

1. Направена е сравнителна характеристика на флавоноли и фенолни киселини в ацетонови екстракти от плодове и листа от червена боровинка.

2. Доказано е, че най-съществено зависят от вегетационния период хлорогеновата, ваниловата и кафеената фенолна киселина. Установено е, че хидрокси-бензоената киселина, кумариновата и галовата киселина не се влияят от вегетационния период.

3. Установено е, че съдържанието на флавонолите с напредване на вегетационния период на листата намалява в екстрактите с изключение на нарингина и мирицитина. Нарингинът и кверцетинът в екстрактите от плодове са в по-малко количество в сравнение с тези от листа през месец юли.

Благодарност

Авторите изказват благодарност за финансовата подкрепа по договор 13/14-н към УХТ.

LITERATURE

- Denev, P., Ciz, M., Ambrozova, G., Logek, A., Yanakieva, I, Krachanova, M., 2010. Food Chemistry, 123, pp. 1055-1061.
- Vatam, D. A., Ghaedian, R., Shetty K., 2005. Asia Pac. J. Clin. Nutr., vol. 14, pp. 120-130.
- Lee, J., Durst, R., Wrolstad, R. E., 2002. Journal of Food Science, vol. 67, pp. 1660-1667.
- Kalkopen, M., Holpa, A., 2001. Journal of agricultural and Food chemistry, vol. 49, pp. 4076-4082.
- Krachanova, M., Denev, P., Kussovski, V., *Advances in Bulgarian Science*, 2008, Vol. 2-3, pp. 24-30.
- Taiz, L., Zeiger E., 1998. Plant Physiology, Sinauer Associates, Inc. Publisher, Sunderland, Massachusetts.
- Stintzing, F.; Carle, R., 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. Trends in Food Science and Technology, 15, 19-38/136.

Delgado-Vargas, F., Jimenez, A., Paredes-Lopez, O., 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40, pp. 173-289.

Aherne, S., O'Brien, N., 2002. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. Nutrition, 18, pp. 75-81.

Price, S., 1994. Sun exposure and flavonols in grape. A thesis submitted in Oregon State University. April 1, 106.

Daniel, E., Krubnick, M., Heur, Blinzler, Nims, Stoner, 1989. J. Food Comp. Anal., vol. 2, pp. 338-349.

Hollman, Trijp, Buysman, 1993. Anal. Chem., pp. 203-208.

Harbone, 1988. The flavonoids-recent advances, ed. Plant pigments, London, England, Academic press, pp. 299-343.

Machix, Fleuriet, Billot, 1990. Fruit Phenolics, Boca Raton, USA, CRC Press.

Britton, G., 1983. The Biochemistry of Natural Pigments. Cambridge, UK Cambridge University Press.

Daniel, EM, Krubnick, AS, Heur, Y-H, Blinzler, JA, Nims, RW, Stoner, GD., 1989. J Food Comp Anal 2: pp. 338-349.

Stöhr, H., Herrmann, K., 1975a. The phenolics of fruits. VI. The phenolics of currants, gooseberries and blueberries. Changes in phenolic acids and catechins during development of black currants. Z Lebensm-Unters Forsch; 159: pp. 31-37.

Статията е приета на 18.01.2015 г.

Рецензент – гл.ас. д-р Мариана Петкова

E-mail: marandonova@gmail.com