

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В ПИЩЕВЫХ ЗЛАКАХ И БОБОВЫХ КУЛЬТУРАХ

А.Яшин, к.х.н., Я.Яшин, д.х.н., П.Федина, к.т.н., Н.Черноусова, к.х.н., НПО "Химавтоматика"
yashinchrom@mail.ru

ИНТЕРЕС к природным антиоксидантам в последнее десятилетие постоянно растет, так как многочисленные эпидемиологические и клинические исследования подтверждают, что антиоксиданты могут защитить человека от опасных болезней и преждевременного старения. Самые сильные природные антиоксиданты – это флавоноиды и оксиароматические кислоты. Более слабые антиоксиданты – витамины Е, С и каротиноиды. Суммарное содержание антиоксидантов (ССА) и их антиоксидантная активность достаточно полно установлены в овощах, фруктах, напитках [1, 2]. Однако проведено мало исследований в области определения антиоксидантной активности зерновых культур, хотя они считаются одним из основных компонентов питания, включая и средиземноморскую диету. Восполнить этот пробел предлагают авторы статьи.

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛАКАХ

Известно, что большая часть антиоксидантов содержится во внешней оболочке зерен. Белоснежная мука менее полезна, чем отруби, в которых до 80 % антиоксидантов. В связи с этим большой интерес вызывают хлебные продукты из цельных зерен. Исследования последних лет показали, что потребление цельнозерновых продуктов снижает риск сердечно-сосудистых заболеваний, желудочно-кишечных опухолей, диабета II типа и других опасных заболеваний [3-8]. Пищевые волокна оболочки зерен также содержат витамины, микроэлементы и другие биологически активные соединения.

Оксиароматические кислоты – основные антиоксиданты цельных зерен [4]. Оксиароматические кислоты – производные бензойной и коричной кислот. Гидроксibenзойные кислоты (галловая, салициловая, ванилиновая, сиреневая, протокатехиновая и п-гидроксibenзойная) обнаружены в зернах ячменя, ржи, пшеницы, риса, проса, кукурузы, маиса, сорго, овса и др. Гидроксикоричные кислоты (феруловая, кофейная, о-, м-,

и п-кумаровые, коричная, синаповая) также содержатся в этих злаках [7-11]. Оксиароматические кислоты в зернах находятся как в свободном, так и связанном состоянии. Свободные оксиароматические кислоты в основном находятся во внешней оболочке и легко экстрагируются органическими растворителями [8]. Связанные оксиароматические кислоты находятся в оболочке клеток, их можно освободить кислым или щелочным гидролизом. Методом ВЭЖХ определено содержание этих кислот в разных хлебных злаках. Больше всего в злаках феруловой и п-кумаровой кислот [12]. Суммарное содержание оксиароматических кислот в хлебных злаках (цельные зерна) приведено в работах [4, 8, 13]: рожь – 1362-1366 мкг/г, просо 612-1478 мкг/г, ячмень – 450-1346 мкг/г, пшеница – 1342 мкг/г, кукуруза – 601 мкг/г, овес – 472 мкг/г, рис – 197-376 мкг/г.

Значительно меньше в хлебных злаках флавоноидов, кроме антоцианинов. Антоцианины содержатся в окрашенных зернах хлебных злаков. Больше всего антоцианинов в черном рисе – 2283 мкг/г, затем в черном сорго – 944 мкг/г. В

кукурузе разных цветов содержание антоцианинов убывает в следующем порядке: пурпурная – 965 мкг/г, красная – 558 мкг/г, голубая – 225 мкг/г, розовая – 93 мкг/г. В голубой пшенице содержание антоцианинов – в пределах 106–153 мкг/г [8].

Проантоцианидины или процианидины (конденсированные танины) – полимеризованные флавонолы – содержатся в просе, ячмене и сорго [14, 15]. В разных злаках были обнаружены флавоны, флаваноны, флаванолы и др. [8].

В озимых сортах злаков содержатся лигнаны (класс фитоэстрагенов), в частности – во ржи, пшенице, ячмене, овсе и др. Количество лигнанов колеблется в пределах 8–299 мкг/100 г. [11, 16]. Некоторые лигнаны идентифицированы, в частности секоизоларисирезинол (*secoisolariciresinol*) и матаирезинол (*matairesinol*), они конвертируются в микрофлоре кишечника в энтеродиол и энтеролактон. Эти соединения биодоступны. Считается, что они уменьшают риск возникновения гормонозависимых опухолей (рак молочной железы и рак простаты), а также рак прямой кишки [16–18].

Особый класс антиоксидантов – алкилрезорцинолы в оболочке зерен ржи, пшеницы, ячменя. В зернах пшеницы содержание алкилрезорцинолов – в пределах 339–759 мкг/г, а в зернах ржи – 578–1008 мкг/г, тогда как в оболочке зерен пшеницы и ржи – 224–3225 мкг/г и 2758–4108 мкг/г, соответственно [18, 19]. Во ржи содержание алкилрезорцинолов существенно выше. Алкилрезорцинолы обладают антиоксидантной, антибактериальной активностью. Алкилрезорцинолы – хорошие биомаркеры цельнозернового хлеба.

В овсе содержится новый класс антиоксидантов – авенантрамиды (соединения производных антралининовой кислоты и производных гидроксикоричной кислоты). Обнаружено три таких соединения, их содержание в пределах 40–132 мкг/г. Эти соединения стабильны, они биопроницаемы, обладают противовоспалительным, антиоксидантным и антиатерогенным действиями [20]. Таким образом, в хлебных злаках содержатся разнообразные природные антиоксиданты, однако больше всего содержится оксиароматических кислот.

Таблица 1. Суммарное содержание антиоксидантов (ССА) в зерновых культурах

Культура	Сорт	Производитель	ССА стандарт (галловая кислота), мг/100 г
Соя	Славия	ВНИИ масличных культур им. В.С. Пустовойта, Краснодар	130
Соя	Вилана		110
Ячмень	Яровой НУР	ГНУ Московский НИИСХ «Немчиновка»	71
Овёс	Яков		69
Пшеница	Московская 40		63
Пшеница	Эстер		44
Пшеница озимая мягкая	Южанка	Кабардино-Балкарский НИИСХ	36
Кукуруза	Росс 273 МВ	ВНИИОЗ, Волгоград	35
Просо	Чегет	Кабардино-Балкарский НИИСХ	24
Просо	Родимое		20
Рис	Волгоградский	ВНИИОЗ, Волгоград	20

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ В ЗЛАКАХ

В представленной работе впервые определено суммарное содержание антиоксидантов в наиболее известных злаках амперометрическим методом и показана возможность определения феруловой кислоты во ржи методом ВЭЖХ. Измерения суммарного содержания антиоксидантов в образцах хлебных злаков проводились на приборе «ЦветЯуза-01-АА» – проточно-инжекционной системе с амперометрическим детектированием. Этот метод прямой, экспрессный – он определяет только антиоксиданты. Предел обнаружения антиоксидантов – в пределах 10^{-10} – 10^{-9} г. СКО (среднеквадратичное отклонение) последовательных измерений – менее 5%, пробы вводились с помощью шестиходового крана-дозатора. Регистрация и обработка результатов измерений проходили в режиме реального времени [1]. Разделение и определение отдельных оксиароматических кислот проводилось на жидкостном хроматографе «ЦветЯуза» с УФ- и амперометрическим детекторами. Образцы хлебных злаков получены у производителей на ярмарке «Золотая осень – 2011» в Москве. Для определения антиоксидантов использовались водно-спиртовые экстракты (30:70 по объему). Определения проводились в соответствии с аттестованной методикой [21].

Таблица 2. Суммарное содержание антиоксидантов в сухих семенах и проростках различных культур в пересчете на абсолютно сухой вес (стандарт – кверцетин)

Культура	В сухих семенах, мг/100г	В проростках, мг/100г	
		на вторые сутки	на пятые сутки
Гречиха	182	203	383
Горох маш	102	263	517
Горох нут	84	190	503
Кукуруза	42	–	–
Чечевица	42	72	90
Овёс голозёрный	34	65	334
Рожь	29	102	320
Пшеница	24	69	275

Суммарное содержание антиоксидантов (ССА) в зерновых культурах различно (табл.1). Больше всего антиоксидантов содержится в сое за счет присутствия в ней большого количества изофлавонов. Содержание антиоксидантов сильно зависит от сорта культуры. В частности, для пшеницы ССА варьируется в диапазоне 36–63 мг/100 г.

Мы измерили десятки образцов разных сортов озимой ржи, предоставленных А.С.Тимошенко, ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии. Значения ССА колебались в пределах 30–78 мг/100 г.

Интерес ко ржи растет во многих странах, в частности в Финляндии, Швеции, Канаде и др. Главный санитарный врач РФ Г.Г.Онищенко утвердил ежедневное потребление антиоксидантов [22]: для здорового человека эта норма в пределах 350 мг в сутки, для больных людей и людей с интенсивной физической нагрузкой (спортсменов) – более 1200 мг в сутки. Потребление продуктов из злаков (хлеб, каши, разные бакалейные продукты) может вносить существенный вклад в эту дневную норму. Полезен черный хлеб из цельных злаков. Так, у хлеба «Довольство» ССА значительно выше белого хлеба (58 и 23 мг/100 г соответственно). Нами измерено ССА в разных крупах: гречневая – 155, ячневая – 44, перловая – 41, кукурузная – 16, манная – 12 мг/100 г.

В табл. 2 приведены значения ССА в сухих семенах некоторых хлебных злаковых культур. Определены значения ССА и в проросших зернах в пересчете на сухой вес (образцы зерен были предоставлены к.б.н. Н. Шаскольской и В. Шаскольским, НПЦ «Росток»). Среди хлебных злаков наибольшее содержание антиоксидантов – в гречихе. Это не удивительно, так как зерна гречихи содержат такие антиоксиданты, как рутины, токоферолы и фенольные кислоты, поэтому эти зерна могут храниться долгое время без химических изменений [23]. В зернах гречихи рутина содержится больше, чем в других растениях. Рутин – глюкозид кверцетина – кроме антиоксидантных свойств обладает антиканцероген-

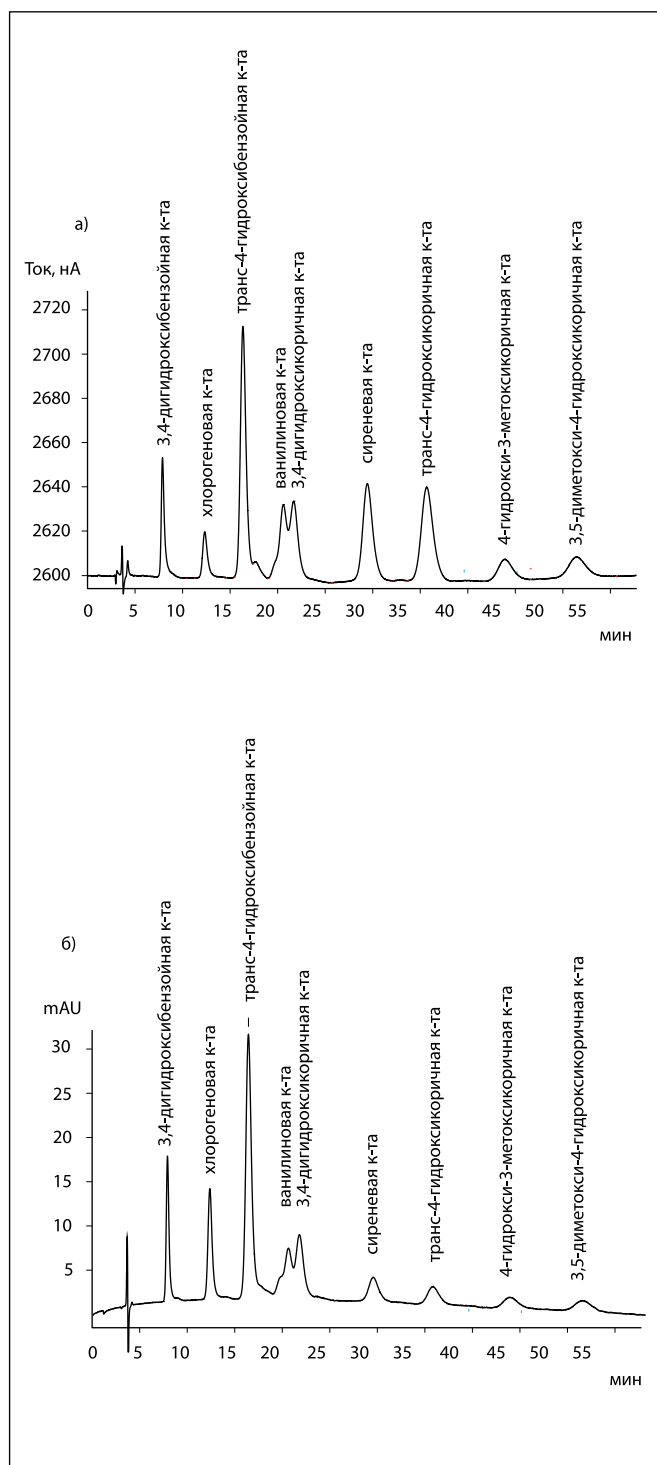


Рис.1. Хроматограмма оксиароматических кислот (хроматограф «ЦветЯуза»): а – с амперометрическим детектором, б – с УФ-детектором (255 нм)

ным и противовоспалительным эффектами. Концентрация флавоноидов в зернах и шелухе гречихи равна 19 мг/100 г и 74 мг/100 г, соответственно [23, 24]. Колебания в концентрации флавоноидов в гречихе связаны с сортом и климатическими

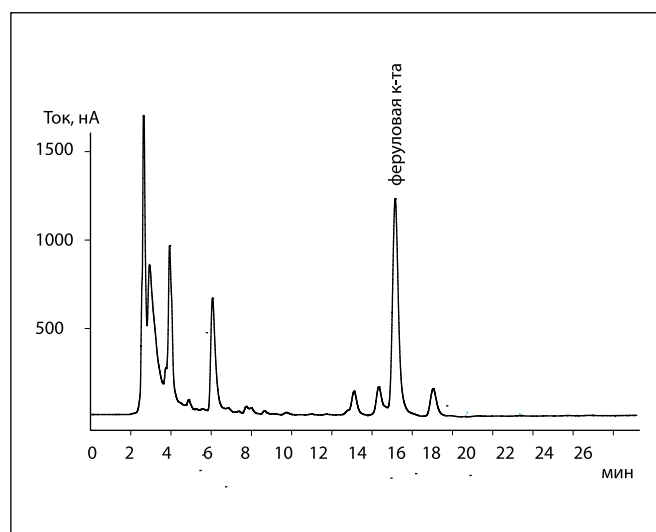


Рис.2. Хроматограмма содержания феруловой кислоты в зёрнах ржи, полученная на хроматографе «ЦветЯуза» с амперометрическим детектором

условиями. В семенах бобовых (см. табл.2) ССА больше, чем в семенах злаков, особенно в горохе нут и маш.

Во всех случаях без исключения ССА в прорастающих семенах существенно увеличивается. Следует отметить, что восемь различных видов растений, в проростках которых определялось ССА, относятся к разным видам и родам. Это позволяет предположить, что увеличение величины ССА при прорастании семян – свойство, характерное для всех высших растений. Интенсивный рост антиоксидантов при прорастании семян необходим для защиты нежного проростка от возможных неблагоприятных факторов внешней среды. Через пять дней, когда вырастает два-три листочка, скорость синтеза антиоксидантов сокращается и после 10 дней практически прекращается.

Для определения индивидуальных оксиароматических кислот в злаках были выбраны оптимальные условия разделения практически всех значимых кислот (рис.1). Используя эти условия, было определено содержание феруловой кислоты в зернах ржи (рис.2). Концентрация в разных сортах ржи колебалась от 60 до 90 мг/100 г.

Таким образом, нами впервые определено суммарное содержание антиоксидантов в разных хлебных злаках амперометрическим методом. Обнаружено уникальное свойство зерен – резкое увеличение в них антиоксидантов в процессе прорастания. Это еще раз убедительно доказывает, что растения защищаются от неблагоприятных

ных факторов внешней среды антиоксидантами. Для определения индивидуальных оксиароматических кислот выбраны хроматографическая колонка и оптимальные условия полного разделения основных оксиароматических кислот. На такой колонке определено содержание феруловой кислоты в разных образцах ржи.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Яшин Я.И., Рыжнев В.Ю., Яшин А.Я., Черноусова Н.И.** Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и влияние их на здоровье и старение человека. – Транслит, 2009.
2. **Yashin Ya.I., Nemzer B.V., Ryzhnev V.Yu., Yashin A.Ya., Chernousova N.I. and Fedina P.A.** Creation of a Databank for Content of antioxidants in food products by an amperometric method. – *Molecules*, 2010, v. 15, p. 7450-7466.
3. *Grain Foods in Health and Disease*/Ed. Marqwart L., Slavin J., Fulcher R.G. – AACC International, St. Paul. MN. 2002.
4. *Handbook of Cereal Science and Technology*/Ed. Kulpk and Ponte J.G. – New York: Marcel Dekker Inc., 2000.
5. **Thompson L.U.** Antioxidant and hopmone-mediated health benefits of whole grains. – *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1994. v. 34, p. 473.
6. **Hooper L., Cassidy A.** A review of the health care potential of bioactive compounds. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, v. 86, issue 12, p.1805-1813.
7. **Jones J.M.** Grain-based foods and health. – *Cereals Food World*, 2006, v.51, p. 108.
8. **Dykes L., Rooney L.W.** Phenolic Compounds in Cereal Grains and Their Health Benefits. – *Cereal Foods World*, 2007, v. 32 (3), p. 105-111.
9. **Holtekjolen A.K., Kimitz C., Knutsen S. H.** Flavanol and bound phenolic acid contents in different barley varieties. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54 (6), p. 2253-2260.
10. **Andreasen M.F., Christensen L.P., Meyer A.S., Hansen A.** Content of phenolic acids and ferulic acid dehydrodimers in 17 rye varieties. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, v. 48, p. 2837.
11. **Zhou Z., Roberds K., Helliwell S. and Blanchard C.** The distribution of phenolic acids in rice. – *Food Chemistry*, 2004, v. 87, issue 3, p. 401-406.
12. **Kovaioka M., Malinova E.** Ferulic and Coumaric Acids, total phenolic compounds and their correlation in selected oat Genotypes. – *Czech Journal of Food Sciences*, 2007. v. 25, N 6, p. 325-332.
13. **Mattila P., Pihlava J. M., and Hellstrom J.** Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, v.53,p.8290.
14. **Emmons, C.L., Peterson, D.M., and Paul, G.L.** Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47:4894.
15. **Goupy, P., Hughes, M., Boivin, P., and Amiot, M.J.** Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, v.79, p.1625.
16. **Buri, R.C., Von Reding, W., and Gavin, M.H.** Description and characterization of wheat aleurone. – *Cereal Foods World*, 2004, Vol. 49, No. 5, p.274.
17. **Cotterchio, M., Boucher, B.A., Manno, M., Gallinger, S., Okey, A., and Harper, P.** Dietary phytoestrogen intake is associated with reduced colorectal cancer risk. – *Journal of Nutrition*, 2006, 136:3046--3053.
18. **Hooper, L., and Cassidy, A.** A review of the health care potential of bioactive compounds. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, v.86, p.1805.
19. **Chen, Y., Ross, A.B., Aman, P., and Kamal-Eldin, A.** Alkylresorcinols as markers of whole grain wheat and rye in cereal products. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52:8242.
20. **Peterson, D.M.** Oat antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 2001, Vol. 33, Issue 2, p. 115-129.
21. Методика выполнения измерений антиоксидантов для водорастворимых проб. Свидетельство № 31-07 от 4 мая 2007 г.
22. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. Методические рекомендации МР 2.3.1. 19150-04 /Под ред. Онищенко Г.Г.-Москва, 2004, с. 24-30.
23. **Oomach B.D., Mazza G.** Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, v. 44, p. 1776-1750.
24. **Adom K.K., Liu R.H.** Antioxidant activity of grains. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, v. 50, p. 6182-6187.