

Antocianinai serbentų, vyšnių bei šilauogių uogose ir ekstraktų antioksidacinis aktyvumas

Nijolė ANISIMOVIENĖ¹, Marina RUBINSKIENĖ², Pranas VIŠKELIS²,
Elicija STACKEVIČIENĖ¹, Vidmantas STANYS², Tadeušas ŠIKŠNIANAS²,
Elžbieta JANKOVSKA¹, Audrius SASNAUSKAS²

¹Botanikos institutas
Žaliųjų Ežerų g. 49, Vilnius
El. paštas: nijole.anisimoviene@botanika.lt

²Lietuvos sodininkystės ir daržininkystės institutas
Kauno g. 30, Babtai, Kauno r. sav.
El. paštas: m.rubinskiene@lsdi.lt

Santrauka

Taikant biocheminius ir fotometrinius metodus, tirti biotechnologijos pramonei perspektyvūs vaisiniai augalai – natūralių antioksidantų antocianinų producentai.

Bandymo metu parinkus visiems objektams tinkamas antocianinų išskyrimo sąlygas, tirtas dviejų vietinės kilmės ir dviejų introdukuotų juodojo serbento (*Ribes nigrum* L.) veislių, trijų introdukuotų sodinės šilauogės (*Vaccinium corymbosum* L.) ir dviejų introdukuotų paprastosios vyšnios (*Prunus cerasus* L.) veislių techninės brandos uogose ir vaisiuose sukauptas antocianinų kiekis. Atskleistos įvairiose uogose sukaupto antocianinų kiekio ir jų biologinio bei antioksidacinio aktyvumo sąsajos. DPPH testu (pagal laisvųjų radikalų sujungimą modelinėse sistemose) įvertintas aktyvumo išlikimas iš įvairių rūšių uogų ir vaisių paruoštuose ekstraktuose.

Nustatyta, kad didžiausia antocianinų koncentracija sukauptama juodųjų serbentų vėlyvųjų veislių 'Ben Tirran' ir 'Ben Lomond' uogose. Nuo jų nežymiai atsilieka vidutinio ankstyvumo veislė 'Kriviai'. Nėra tiesioginės priklausomybės tarp antocianinų kiekio ir jų antioksidacinio aktyvumo. Pagal laisvųjų radikalų sujungimą didžiausiu santykiniu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi juodųjų serbentų veislės 'Joniniai' ir 'Kriviai'. Didelis antioksidacinis aktyvumas taip pat būdingas vyšnių veislės 'Lotinė' uogų antocianinų ekstraktams. Antioksidacinės antocianinų ekstraktų savybės gerai išlieka ir po reekstrakcijos.

Reikšminiai žodžiai: antocianinai, antioksidantai, *Ribes nigrum* L., *Prunus cerasus* L., *Vaccinium corymbosum* L.

Įvadas

Antioksidantai – junginiai, sulaikantys arba pristabdantys oksidacijos reakcijų plitimą ląstelėje. Oksidacinis stresas, aktyvių deguonies formų bei laisvųjų radikalų poveikis sukelia ląstelės metabolizmo pokyčius, susijusius su DNR bei baltymų pažeidimu, lipidų peroksidacija. Tai sukelia uždegiminius procesus, širdies ligas ir vėžio susirgimus /Cooke et al., 2005; Fleschhut et al., 2006/.

Šiuo metu pagal kilmę antioksidantai yra skirstomi į sintetinius ir natūralius. Plačiausiai paplitę sintetiniai antioksidantai yra alkilinti fenoliniai junginiai. Natūraliems

antioksidantams priskiriami fenoliniai junginiai (α -tokoferolis, flavonoidai, iš jų – antocianinai, fenolinės rūgštys), askorbo rūgštis, karotenoidai ir kt. Vyšnių, serbentų ir šilauogių uogose esantys antocianinai dėl savo ypatingos struktūros (elektrono trūkumo) bei antioksidacinio poveikio aktyvioms deguonies formoms ir laisviesiems radikalams priskiriami stipriems (efektyviems) antioksidantams /Galvano, 2005; Fleschhut et al., 2006/. Jų biologinis aktyvumas tyrinėtas taikant įvairias testavimo sistemas /Cooke et al., 2005; Šarkinas ir kt., 2005; Fleschhut et al., 2006/. Iki šiol neatskleistas ryšys tarp antocianinų koncentracijos (kiekio) ir jų biologinio aktyvumo bei poveikio specifikos.

Siekiant išaiškinti perspektyvius uoginius augalus – natūralių antioksidantų antocianinų šaltinius, tikslinga atlikti lyginamuosius antocianinų kiekio ir jų biologinio antioksidacinio aktyvumo tyrimus. Antocianinų kiekis uogose priklauso nuo augalo kilmės, veislės savybių, augavietės, uogų sunokimo laipsnio, klimato ypatumų /Moyer et al., 2002; Manach et al., 2004; Rubinskiene et al., 2006; Siksianas et al., 2006/.

Lietuvoje plačiau tyrinėti *Ribes*, *Vaccinium* ir *Rubus* genčių augalų uogų antocianinai /Rubinskiene et al., 2006; Burdulis et al., 2007; Viškelis et al., 2007/. Kiek išsamiau tyrinėti pietiniuose kraštuose augančių vyšnių uogų antocianinai ir jų aglikonai /Wang et al., 1999; Blando et al., 2004; Lee et al., 2007/. Šiuo atžvilgiu Lietuvoje išaugintos vyšnios netirtos. Lietuvoje uogų antocianinų antioksidacinis aktyvumas mažai tyrinėtas.

Tyrimo tikslas – ištirti juodųjų serbentų, paprastųjų vyšnių ir sodinių šilauogių įvairių veislių uogose/vaisiuose sukauptus antocianinus, nustatyti jų antioksidacinį aktyvumą ir stabilumą, išskirti perspektyvių veislių uoginius augalus – antocianinų producentus.

Sąlygos ir metodai

2007–2008 m. tirti juodojo serbento (*Ribes nigrum* L.) veislių 'Joniniai', 'Kriviai', 'Ben Lomond' bei 'Ben Tirran', sodinės šilauogės (*Vaccinium corymbosum* L.) veislių 'Northland', 'Bluecrop' bei 'Blueray' techninės brandos uogų ir paprastosios vyšnios (*Prunus cerasus* L.) veislių 'Lotinė' bei 'Pandy 301' techninės brandos vaisių antocianinai.

Literatūroje pateikti antocianinų kiekybės bei kokybės tyrimų duomenys rodo, kad pigmentų analizės sąlygas reikia parinkti atsižvelgus į tiriamąją medžiagą ir ekstrakcijos terpės sudėtį /Blando et al., 2004; Manach et al., 2004; Rubinskiene et al., 2006; Tian et al., 2006; Xiong et al., 2006/. Didžiausi antocianinų kiekio ir jų cheminės sudėties nustatymo sunkumai yra susiję su pirmaisiais tyrimo etapais /Slimestad, Solheim, 2002; Betsui et al., 2004; Galvano, 2005; Tian et al., 2006; Xiong et al. 2006/. Siekiant iš įvairių rūšių uogų išskirti antocianinus (pagrindinius bei minorinius jų komponentus) ir užtikrinti gautų ekstraktų aktyvumo stabilumą, buvo parinktas tinkamiausias jų ekstrahentas ir optimizuotas tiriamosios medžiagos bei ekstrahento santykis.

Tyrimams naudota – 80 °C temperatūroje užšaldyta, šiomis sąlygomis laikyta ir užšaldyta sutrinta tiriamoji medžiaga. Tiriamosios medžiagos ir ekstrahento santykis bei antocianinų ekstraktų paruošimo būdas buvo parinkti bandymo būdu, taikant optimalias – vienodas ir užtikrinančias visišką antocianinų ekstrakciją iš visų tiriamų objektų – sąlygas (1 lentelė).

Literatūroje nurodyta, kad antocianinų ekstrakcijai iš augalinės medžiagos labiausiai tinka įvairios koncentracijos etanolio arba metanolio tirpalai, parūgštinti skruzdžių, trifluoracto arba druskos rūgštimi, todėl antocianinams išskirti naudoti 80 arba 92 % koncentracijos, parūgštinti iki 0,1 N HCl koncentracijos etanolio ir metanolio tirpalai /Veteikytė ir kt., 2002; Betsui et al., 2004; Blando et al., 2004; Tian et al., 2006; Lee et al., 2007/. Druskos rūgšties pasirinkimą lėmė tai, kad ši medžiaga yra natūralus žmogaus skrandžio sulčių komponentas.

Taikyta ekstrakcija medžiagos ir tirpiklio santykiui esant 1:5, 1:7 ir 1:10 g ml⁻¹, ekstrakcijos periodo trukmė – nuo 4 iki 16 val.

1 lentelėje pateiktos optimalios išskyrimo sąlygos, užtikrinančios visišką serbentų, šilauogių uogų ir vyšnių vaisių pigmentų antocianinų ekstrakciją ir jų stabilumą. Silpnesnės koncentracijos metanolio arba etanolio tirpalai antocianinų ekstrakcijai pasirodė esą netinkami – nebuvo užtikrinta visiška antocianinų ekstrakcija.

1 lentelė. Antocianinų ekstrakcijos iš techninės brandos serbentų, šilauogių uogų ir vyšnių vaisių sąlygos

Table 1. Conditions for anthocyanin extraction from currant, blueberry berries and cherry fruits at harvest stage

Ekstrahentas <i>Extractor</i>	Procedūra <i>Procedure</i>	Rodiklis <i>Index</i>
92 % metanolis / <i>methanol</i> 0,1 N HCl	Medžiagos ir ekstrahento santykis (g žalios masės ml ⁻¹) <i>Material to extractor ratio</i> (g fresh weight ml ⁻¹)	1:10
	Ekstrakcijos temperatūra ir šviesa <i>Temperature and light</i>	+4 °C tamsoje +4°C in dark
	Ekstrakcijos trukmė val. <i>Extraction duration h</i>	16*

Pastaba / *Note.* * – ekstrakcijos metu mišiniai du kartus po 30 min. buvo purtomi magnetinėje maišyklėje / *during the extraction, the mixtures were twice shaken for 30 min periods on a magnetic stirrer.*

Ekstraktai nuo uogų likučių atskirti vakuuminės filtracijos būdu per 0,2 µm porų skersmens membraninius filtrus („Albet“) /Orak, 2006/. Tiriamoji medžiaga nuo filtrų buvo ekstrahuota tirpalu iki visiško antocianų išskyrimo (spalvos išplovimo).

Bendra antocianinų koncentracija gautuose ekstraktuose ir/ar reekstraktuose nustatyta pH diferenciniu metodu, pagal absorbciją bangos ilgiui esant 520 ir 700 nm, optiniam tankiui – nuo 0,4 iki 0,6 sugerties vienetų, t. y. optimaliai sugerties amplitudei /Briedis ir kt., 2003; Orak, 2006/. Antocianinų koncentracija (mg l⁻¹) apskaičiuota pagal cianidin-3-gliukozido ekvivalentą ir perskaičiuota antocianinų kiekiui 100 g žalios uogų masės /Veteikytė ir kt., 2002; Betsui et al., 2004/.

Reekstrakcija atlikta tomis pačiomis sąlygomis, kaip ir ekstrahuojant antocianinus, panaudojus parūgštintą 92 % koncentracijos metanolio tirpalą.

Antioksidacinis aktyvumas nustatytas fotometriniu metodu pagal laisvųjų radikalų sujungimą 2,2-difenil-1-pikrylhidrazil (DPPH) modelinėse sistemose: 10–100 µM koncentracijos išskirtų antocianinų ekstraktų tirpalams sąveikaujant su $6,5 \times 10^{-5}$ M koncentracijos DPPH tirpalais /Briedis ir kt., 2003; Betsui et al., 2004/. Sugerties pokyčiai įvertinti bangos ilgiui esant 515 nm. Išskirtų antocianinų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas (AA %) apskaičiuotas pagal DPPH standarto ir DPPH su antocianinų ekstraktų tirpalu sugerties skirtumus.

Siekiant įvertinti antioksidacinio aktyvumo kitimą, išskirti antocianinų ekstraktai koncentruoti garinant vakuume +40 °C temperatūroje /Blando et al., 2004; Einbond et al., 2004; Lohachoompol et al., 2004; Tian et al., 2006/, laikyti –30 °C temperatūroje.

Rezultatų statistinis įvertinimas atliktas *Microsoft Excel* programa. Standartinės paklaidos apskaičiuotos, esant 95 % tikimybės lygiui /Sakalauskas, 1998/.

Rezultatai ir jų aptarimas

Įvairiose šalyse ieškoma ingredientų, kurie produkciją praturtintų natūraliais antioksidantais /Einbond et al., 2004; Orak, 2006; Tian et al., 2006; Viškelis et al., 2007/. Viena iš perspektyvių natūralių antioksidantų grupių yra antocianinai. Šie junginiai itin vertinami kaip dietinių maisto produktų sudedamoji dalis, papildai, stabilizatoriai; turi perspektyvą būti naudojami vietoj kancerogeniniu poveikiu pasižyminčių sintetinių dažų /Betsui et al., 2004; Blando et al., 2004/.

Tyrimų rezultatai parodė, kad pagal sukauptą antocianinų kiekį skiriasi ne tik tirtos rūšys (juodojo serbento, paprastosios vyšnios bei sodinės šilauogės), bet ir jų įvairių veislių techninės brandos uogos bei vaisiai. Daugiausia antocianinų nustatyta juodųjų serbentų uogose. Įvairių veislių uogose antocianinų kiekis skyrėsi 1,5–2 kartus (2 lentelė).

2 lentelė. Antocianinų kiekis įvairių veislių juodųjų serbentų uogose

Table 2. The amount of anthocyanin in the berries of black currant cultivars

Veislė <i>Cultivar</i>	Veislės savybė <i>Characteristic of cultivar</i>	Kilmės šalis <i>Country of origin</i>	Antocianinų kiekis* <i>Amount of anthocyanin*</i> mg 100 g ⁻¹
‘Joniniai’	Ankstyvoji <i>Early ripening</i>	Lietuva <i>Lithuania</i>	278–345
‘Kriviai’	Vidutinio ankstyvumo <i>Moderate early ripening</i>	Lietuva <i>Lithuania</i>	472–541
‘Ben Lomond’	Vėlyvoji <i>Late ripening</i>	Škotija <i>Scotland</i>	512–548
‘Ben Tiran’	Vėlyvoji <i>Late ripening</i>	Škotija <i>Scotland</i>	500–577

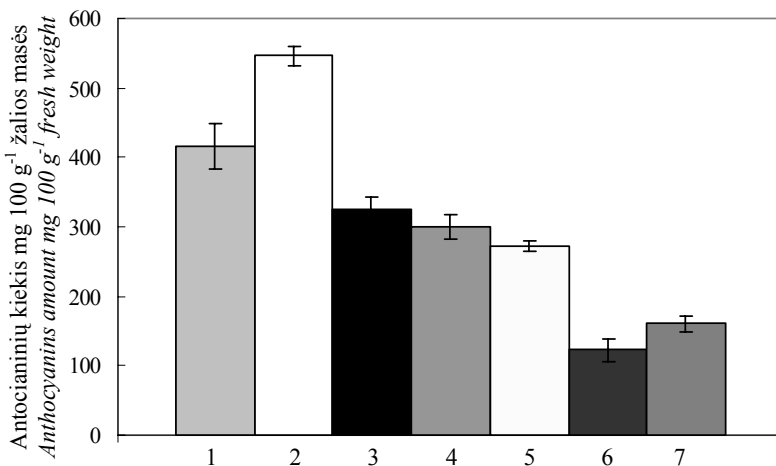
Pastaba / *Note.* * – lentelėje pateiktos rodiklių ribos / *the limits of indexes are presented in the table.*

Esant techninei brandai, didžiausią antocianinų kiekį sukauptė vėlyvųjų introduktuotų veislių ‘Ben Lomond’ ir ‘Ben Tiran’ uogos. Nuo jų nedaug atsiliko vidutinio ankstyvumo vietinės kilmės veislė ‘Kriviai’. Tyrimų metais mažiausiai antocianinų

nustatyta ankstyvosios veislės 'Joniniai' uogose. Pagal sukauptą dažančių medžiagų kiekį tirtos juodųjų serbentų veislės pasiskirsto taip: 'Ben Tirran' < 'Ben Lomond' < 'Kriviai' < 'Joniniai'.

Galima teigti, kad antocianinų producentų paieškų tyrimai turi būti sutelkti ne tik į didelį kiekį antocianinų sukauptiančių rūšių bei tam tikrų jų veislių paiešką, bet ir į veislių, pasižyminčių dideliu bei stabiliu antioksidaciniu poveikiu, atranką. Tai aktualu agrobiotechnologams, farmakologams, vaisių perdirbėjams ir maistinių dažų bei papildų gamintojams /Blando et al., 2004; Lohachoopol et al., 2004; Liobikas ir kt., 2008/.

Kitų autorių tyrimų metu nustatyta, kad, palyginti su kitais augalais, juodųjų serbentų uogose sukaupti antocianinai pasižymi dideliu antioksidaciniu aktyvumu /Lohachoopol et al., 2004; Nakajima et al., 2004/. Šio tyrimo duomenimis, didžiausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas Lietuvoje sukurtų juodųjų serbentų veislių uogų antocianinų ekstraktuose. Ankstyvosios veislės 'Joniniai' techninės brandos uogų antocianinų ekstraktų DPPH radikalo inaktyvacija buvo ne mažesnė nei 82 %, o vidutinio ankstyvumo veislės 'Kriviai' – 79 %. Dideliu pigmentų kiekiu pasižyminčių vėlyvųjų veislių uogų antocianinų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas buvo kiek mažesnis: 'Ben Lomond' inaktyvavo iki 78 %, 'Ben Tirran' – iki 72 % sistemoje esančio DPPH radikalo.



Paveikslas. Antocianinų kiekis tirtų rūšių ir veislių techninės brandos uogose bei vaisiuose: 1 – Lietuvoje sukurtų juodųjų serbentų veislių uogų vidutiniai duomenys, 2 – Škotijos selekcijos juodųjų serbentų veislių uogų; sodinių šilauogių veislių uogų: 3 – 'Northland', 4 – 'Blueray', 5 – 'Bluecrop'; paprastųjų vyšnių veislių vaisių: 6 – 'Lotinè' ir 7 – 'Pandy 301'

Figure. The amount of anthocyanin in the berries and fruits of investigated species and cultivars at harvest stage: 1 – average data of Lithuanian black currant cultivars, 2 – average data of Scottish black currant cultivars; blueberry cultivars: 3 – 'Northland', 4 – 'Blueray', 5 – 'Bluecrop' berries; cherry cultivars: 6 – 'Lotinè' and 7 – 'Pandy 301' fruits

Iš visų tirtų juodųjų serbentų veislių uogų paruošti antocianinų ekstraktai turi gana didelį antioksidacinio aktyvumo stabilumą: reekstrahuotuose preparatuose aptikta nuo 71 iki 94 % buvusio aktyvumo, o vidutinė vertė – ne mažesnė nei 85 %.

Sodinių šilauogių trijų veislių techninės brandos uogose nustatytas antocianinų kiekis, kaip ir juodųjų serbentų uogose (2 lentelė), labai įvairuoja – nuo 240 iki 420 mg 100 g⁻¹. Pagal sukauptą antocianinų kiekį šilauogių uogos prilygsta tik mažiausią kiekį antocianinų sukaupiančiai juodųjų serbentų veislei 'Joniniai'.

Palyginti su vidutinio ankstyvumo veislėmis 'Bluecrop' arba 'Blueray', ankstyvosios veislės 'Northland' uogos pasižymi didesniu kiekiu antocianinų (pav.). Tarp veislių šios veislės sodinės šilauogės uogų antocianinų ekstraktai išsiskiria ir stipresniu antioksidaciniu poveikiu – 65 %. Iš veislių 'Bluecrop' ir 'Blueray' uogų išskirti analogiškos koncentracijos antocianinų ekstraktai inaktyvuoja apie 62 % DPPH radikalo.

Sodinių šilauogių uogų antocianinų ekstraktų laisvųjų radikalų sujungimo rodiklis yra mažesnis už Lietuvoje sukurtų juodųjų serbentų veislių uogų pigmentų ekstraktų. Antocianinų koncentracijai esant 30 mg l⁻¹, juodųjų serbentų uogų ekstraktai inaktyvuoja iki 83 % DPPH radikalo, o sodinių šilauogių uogos – tik 65 %. Iš sodinių šilauogių uogų išskirtų antocianinų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo išlikimas siekia 72 %.

Cheminių tyrimų duomenimis, vyšnių veislės 'Lotinė' techninės brandos vaisiai sukaupia nedidelį kiekį antocianinų (3 lentelė). Šios veislės vyšnios dažančių medžiagų sukaupia du kartus mažiau už šilauoges ir tris kartus mažiau už juoduosius serbentus, tačiau jų antioksidacinis aktyvumas yra didelis (3 lentelė).

Juodųjų serbentų uogų ir vyšnių vaisių antocianinų ekstraktų biologinio aktyvumo išlikimas reekstrahuotuose bandiniuose įvertintas pagal antibakterinį poveikį /Liobikas ir kt., 2008/.

3 lentelė. Antocianinų kiekis vyšnių veislių 'Lotinė' bei 'Pandy 301' vaisiuose ir jų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas

Table 3. The amount of anthocyanin in fruits of the cherry cultivars 'Lotinė' and 'Pandy 301', and antioxidative activity of their extracts

Rodiklis / Index	Vertė / Value*	
	'Lotinė'	'Pandy 301'
Antocianinų kiekis mg 100 g ⁻¹ <i>Anthocyanin content mg 100 g⁻¹</i>	102–156	126–186
Antioksidacinis aktyvumas % pagal DPPH testą <i>Antioxidative activity % according to DPPH test</i>	74–82	67–69
Antioksidacinio aktyvumo išlikimas reekstrahuotuose ekstraktuose % <i>Conservation of antioxidative activity in re-extracted extracts %</i>	78–88	56–64

Pastaba / Note. * – lentelėje pateiktos rodiklių ribos / the limits of indexes are presented in the table.

Tyrimų duomenimis, veislės 'Pandy 301' vaisiai sukaupia didesnę kiekį antocianinų, tačiau jų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas, esant analogiškomis vyšnių veislės 'Lotinė' ekstraktų molinėms koncentracijoms, yra mažesnis – 67–69 %. Mažesnis ir aktyvumo išlikimo procentas.

Apibendrinant pažymėtina, kad nėra nustatytas tiesioginis priklausomumas tarp sukaupto kiekio antocianinų ir jų antioksidacinio aktyvumo tirtų rūšių uogose bei vaisiuose.

Juodųjų serbentų uogos sukaupė didžiausią kiekį dideliu antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių antocianinų. Vyšnių veislės 'Lotinė' vaisiuose antocianinų nustatyta tris kartus mažiau, palyginti su serbentais, bet jų antioksidacinis aktyvumas yra labai didelis (3 lentelė). Šilauogių veislės 'Northland' uogose nustatytas antocianinų kiekis prilygsta mažiausią antocianinų kiekį sukaupiančiai juodųjų serbentų veislei 'Joniniai'.

Įvairių rūšių augaluose aptinkamas antocianinų kiekis yra labai nevienodas ir labai įvairuoja – nuo kelių iki dešimties ar net dvidešimties kartų. Literatūros duomenimis, aviečių uogos jų sukaupia iki 365, mėlynių – iki 700, vyšnių vaisiai – nuo 28 iki 450, sodinės šilauogės – nuo 25 iki 500, juodieji serbentai – nuo 130 iki 589 mg 100 g⁻¹ uogų /Lauro, Francis, 1999; Slimestad, Solheim, 2002; Blando et al., 2004; Manach et al., 2004; Viškelis et al., 2007/. Tyrimų metu trijų rūšių bei skirtingų veislių uogų/vaisių antocianinų kiekį lyginant su kitų autorių duomenimis nustatyta, kad Lietuvos klimato sąlygomis ir vietinės kilmės, ir introdukuotų augalų veislės sukaupia gana didelį kiekį antocianinų, gerokai viršijančių nurodomus vidurkius.

Tyrimų duomenimis, didelis antioksidacinio aktyvumo išlikimas antocianinų ekstraktuose po reekstrakcijos patvirtina šių augalų uogų bei vaisių, ypač tirtų juodųjų serbentų veislių ir vyšnių veislės 'Lotinė', kaip natūralių antocianinų šaltinių, perspektyvumą. Be to, antioksidacinio aktyvumo ir jo kitimo rodikliai reekstrahuotuose tirtų rūšių veislių uogų bei vaisių ekstraktuose patvirtina prielaidą, kad jis priklauso nuo įvairių genčių, rūšių bei jų veislių augaluose sukauptų antocianinų kompleksų ir jų aglikonų (antocianidinų) sudėties /Matsumoto et al., 2002; Blando et al., 2004; Nakajima et al., 2004; Galvano, 2005; Fleschhut et al., 2006/.

Išvados

1. Didžiausia antocianinų koncentracija susidaro juodųjų serbentų vėlyvųjų veislių 'Ben Tirran' ir 'Ben Lomond' uogose. Nuo jų šiek tiek atsilieka vidutinio ankstyvumo veislė 'Kriviai'.

2. Nėra tiesioginio priklausomumo tarp antocianinų kiekio ir jų antioksidacinio aktyvumo. Pagal laisvųjų radikalų sujungimą didžiausiu santykinu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi juodųjų serbentų veislės 'Joniniai' ir 'Kriviai'. Didelis antioksidacinis aktyvumas būdingas vyšnių veislės 'Lotinė' vaisių antocianinų ekstraktams.

3. Antioksidacinės antocianinų ekstraktų savybės išliko ir po reekstrakcijos.

Padėka

Tyrimą parėmė Lietuvos valstybinis mokslo ir studijų fondas pagal Pramoninės biotechnologijos plėtros programos projektą „Vaisiniai augalai – natūralių antocianinų producentai“.

Gauta 2009 07 08
Pasirašyta spaudai 2009 08 03

LITERATŪRA

1. Betsui F., Tanaka-Nishikawa N., Shimomura K. Anthocyanin production in adventitious root cultures of *Raphanus sativus* L. cv. 'Peking Koushin' // *Plant Biotechnology*. – 2004, vol. 21, No. 5, p. 387–391
2. Blando F., Gerardi C. Nicoletti I. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) anthocyanins as ingredients of functional foods // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2004, vol. 5, p. 253–258
3. Briedis V., Povilaitytė V., Kazlauskas S. ir kt. Polifenolių ir antocianinų kiekis vynuogėse, vynuogių sultyse ir raudonuosiuose vynuose bei jų antioksidacinio aktyvumo įvertinimas // *Medicina*. – 2003, t. 39, 2 priedas, p. 104–112
4. Burdulis D., Ivanauskas L., Diršė V. ir kt. Antocianų sudėties įvairovės tyrimai mėlynės (*Vaccinium myrtillus* L.) vaisiuose // *Medicina*. – 2007, t. 43, Nr. 12, p. 971–977
5. Cooke D., Steward W., Gescher A. et al. Anthocyanins from fruits and vegetables: does bright colour signal cancer chemopreventive activity? // *European Journal of Cancer*. – 2005, vol. 41, No. 13, p. 1931–1940
6. Einbond L., Reynertson K., Luo X. et al. Anthocyanin antioxidants from edible fruits // *Food Chemistry*. – 2004, vol. 84, p. 23–28
7. Fleschhut J., Kratzer F., Rechkemmer G. et al. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanidins *in vitro* // *European Journal of Nutrition*. – 2006, vol. 45, p. 7–18
8. Galvano F. The chemistry of anthocyanins. *Functional ingredients magazine*. – 2005, vol. 7, p. 1–6
9. Lauro G. J., Francis F. J. Natural food colorants / *Science and technology: proceedings of a symposium* // *Institute of Food Technologists*. – 1999. – 344 p.
10. Lee B. B., Cha M. R., Kim S. Y. et al. Antioxidative and anticancer activity of extracts of cherry (*Prunus serrulata* var. *Spontanea*) blossoms // *Plant Foods for Human Nutrition*. – 2007, vol. 62, p. 79–84
11. Liobikas J., Liegiūtė S., Majienė D. ir kt. Skirtingų *Ribes nigrum* veislių uogų ekstraktų, turtingų antocianinų, antimikrobinis aktyvumas // *Sodininkystė ir daržininkystė*. – 2008, t. 27, Nr. 4, p. 59–66
12. Lohachoopol V., Szrednicki G., Craske J. The changes of total anthocyanin in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2004, vol. 5, p. 248–252
13. Manach C., Scalbert A., Morand C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability // *American Journal of Clinical Nutrition*. – 2004, vol. 79, No. 5, p. 727–747
14. Matsumoto H., Nakamura Y., Hirayama M. et al. Antioxidant activity of black currant anthocyanins and their glycosides measured by chemiluminescence in neutral pH region and in human plasma // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2002, vol. 50, No. 18, p. 5034–5037
15. Moyer R. A., Hummer K. E., Finn C. E. et al. Anthocyanin, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2002, vol. 50, p. 519–525
16. Nakajima J., Tanaka I., Seo S. et al. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2004, No. 5, p. 241–247

17. Orak H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities and its correlation in some important red wine grape varieties which are grown in Turkey // *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. – 2006, vol. 9, p. 1–7
18. Rubinskiene M., Viskelis P., Jasutiene I. et al. Changes in biologically active constituents during ripening in black currants // *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. – 2006, vol. 14, No. 2, p. 237–246
19. Sakalauskas V. Statistika su *Statistica*. – Vilnius, 1998. – 227 p.
20. Siksnianas T., Stanys V., Sasnauskas A. et al. Fruit quality and processing potential in five new black currant cultivars // *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. – 2006, vol. 14, No. 2, p. 265–271
21. Slimestad R., Solheim H. Anthocyanins from Black currants (*Ribes nigrum* L.) // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2002, vol. 50, No. 11, p. 3228–3231
22. Šarkinas A., Jasutienė I., Viškelis P. Mėlynių ir spanguolių ekstraktų antimikrobinės savybės [Antimicrobial properties of blueberry, cranberry and blackcurrant extracts] // *Sodininkystė ir daržininkystė*. – 2005, t. 24, Nr. 4, p. 100–111
23. Tian Q., Giusti M., Stoner G. et al. Characterization of a new anthocyanin in black raspberries (*Rubus occidentalis* L.) by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry // *Food Chemistry*. – 2006, vol. 94, p. 465–468
24. Veteikytė Ž., Savickienė N., Kazlauskas S. Antocianinų išskyrimas iš juodųjų serbentų (*Ribes nigrum* L.) vaisių // *Biomedicina*. – 2002, t. 2, p. 149–152
25. Viškelis P., Bobinaitė R., Rubinskiene M. Biochemical composition and antioxidant properties of raspberries during ripening // *Sodininkystė ir daržininkystė*. – 2007, t. 26, Nr. 4, p. 161–173
26. Wang H., Nair M. G., Strasburg G. M. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries // *Journal of Natural Products*. – 1999, vol. 62, No. 2, p. 294–296
27. Xiong S., Melton L. D., Easteal A. J. et al. Stability and antioxidant activity of black currant anthocyanins in solution and encapsulated in glutan gel // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2006, vol. 54, No. 17, p. 6201–6208

Anthocyanins in currants, cherries, blueberries, and antioxidative activity of berry extracts

N. Anisimovienė¹, M. Rubinskienė², P. Viškelis², E. Stackevičienė¹,
V. Stanys², T. Šikšnianas², E. Jankovska¹, A. Sasnauskas²

¹Institute of Botany

²Lithuanian Institute of Horticulture

Summary

Fruit plants, producers of the natural antioxidants – anthocyanins, perspective for biotechnological industry were investigated employing biochemical and photometrical methods.

The pertinent conditions for anthocyanin isolation from all tested objects were selected experimentally. The anthocyanin amounts accumulated in berries of two local and two introduced black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars, three introduced blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars as well as two introduced cherry (*Prunus cerasus* L.) cultivars were investigated at harvesting. The relationships between the amount of anthocyanins in different fruits and berries and their antioxidative activity were revealed. The persistence of antioxidative activity in re-extracted anthocyanin specimens prepared from different tested berries was estimated according to their free radical scavenging activity using DPPH test.

The highest concentration of anthocyanins was found to be accumulated in the berries of the late ripening black currant cultivars 'Ben Tirran' and 'Ben Lomond'. A moderately early cultivar 'Kriviai' only slightly fell behind. The obtained results showed no direct correlation between the anthocyanin amount and antioxidative activity in berries. The highest relative antioxidative activity, according to the free radical scavenging data, was determined in the cultivars 'Joniniai' and 'Kriviai'. The highest relative antioxidative activity, according to the free radical scavenging data, was determined in the cultivars 'Joniniai' and 'Kriviai'. High antioxidative activity was also characteristic of anthocyanin extracts prepared from the cherry 'Lotinė'. The antioxidative peculiarities were found to be highly persistent also in re-extracted anthocyanin specimens.

Key words: anthocyanins, antioxidants, *Ribes nigrum* L., *Prunus cerasus* L., *Vaccinium corymbosum* L.