

УДК 543.429.23:634.739.2+634.739.3

Е. Д. Скаковский¹, Л. Ю. Тычинская¹, Д. Н. Латышевич¹, С. Н. Шиш², С. А. Ламоткин³¹Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси²Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси³Белорусский государственный технологический университет**ЯМР АНАЛИЗ СОКА И ЭКСТРАКТОВ СЕМЯН КЛЮКВЫ**

Проведен сравнительный ¹H и ¹³C ЯМР анализ сока и хлороформенных (CDCl₃) и водных (D₂O) экстрактов семян клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* L.) и клюквы крупноплодной сорта Стивенс (*Oxycoccus macrocarpus* Ait, "Stevens"). Клюква крупноплодная была выращена на территории лаборатории интродукции и технологии ягодных растений Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, г. Ганцевичи, а клюква болотная собрана на болоте в Пуховичском районе.

В соке ягод обнаружены следующие сахара: глюкоза, фруктоза и сахароза, а в соке клюквы болотной дополнительно сорбитол. Из кислот в значительных количествах присутствуют лимонная, яблочная, хинная и бензойная, которой больше в клюкве болотной.

Хлороформенные экстракты семян содержат триацилглицериды, в составе которых присутствуют остатки линолевой, α-линоленовой, олеиновой и насыщенных кислот приблизительно в одинаковых количествах для обоих видов клюквы. При этом олеиновая и линолевая кислоты в молекулах триацилглицеридов занимают предпочтительно центральное положение, а α-линоленовая – крайние.

В водных экстрактах семян идентифицированы углеводы: сахароза, галактоза, глюкоза и фруктоза и аминокислоты: гистидин, фенилаланин, тирозин, γ-аминомасляная кислота, пролин, лизин, аргинин, аланин, треонин, валин, изолейцин и лейцин.

Ключевые слова: метод ЯМР, клюква болотная, клюква крупноплодная, сок клюквы, экстракты семян клюквы.

E. D. Skakovskii¹, L. Yu. Tychinskaya¹, D. N. Latyshevich¹, S. N. Shish², S. A. Lamotkin³¹Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus²Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus³Belarusian State Technological University**NMR ANALYSIS OF CRANBERRY JUICE AND SEEDS EXTRACTS**

Comparative ¹H and ¹³C NMR analyzes of juice and chloroform (CDCl₃) and water (D₂O) seed extracts of European cranberry (*Oxycoccus palustris* L.) and marsh cranberry, Stevens breed (*Oxycoccus macrocarpus* Ait, "Stevens") were carried out. Marsh cranberries were grown on the territory Laboratory of introduction and technology of berry plants of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Gantsevichi, and the European cranberry was harvested in a swamp in the Pukhovichi District.

The following sugars were found in the juice of berries: glucose, fructose and sucrose; the juice of European cranberry additionally contained sorbitol. The following acids were found in significant quantities: citric, malic, quinic and benzoic, larger amount of which was found in European cranberry.

Chloroform seed extracts contain triacylglycerides, in which the residues of linoleic, α-linolenic, oleic and saturated acids in approximately equal amounts for both types of cranberries are present. In such a case, oleic and linoleic acids in the triacylglyceride molecules occupy a central position, and α-linolenic – the extreme one.

In the water extracts of seeds the following carbohydrates were identified: saccharose, galactose, glucose and fructose; and also the following amino acids: histidine, phenylalanine, tyrosine, γ-aminobutyric acid, proline, lysine, arginine, alanine, threonine, valine, isoleucine and leucine.

Key words: NMR method, European cranberry, marsh cranberry, cranberry juice, extracts of cranberry seeds.

Введение. Клюква относится к группе цветковых растений семейства Вересковых. Ягоды всех видов клюквы съедобны, активно используются в кулинарии и пищевой промышленности. Она заряжает организм энергией и при этом содержит большое число антиоксидантов, помогающих приостановить процесс старения.

Ягоды обладают тонизирующим и освежающим эффектом, повышают умственные и физические способности, эффективно разрушают канцерогены и предотвращают развитие сердечно-сосудистых заболеваний. Клюква обладает мощными антибактериальными свойствами, повышает иммунитет, нормализует артери-

альное давление [1]. В последнее время находят широкое применение ягоды клюквы крупноплодной, специально выращиваемой на различных участках.

Поэтому для выявления сортов клюквы с лучшими потребительскими свойствами необходимо проведение анализа.

Кроме клюквенного сока, нашедшего широкое применение, необходимо отметить и ее семена, в которых присутствуют полезные масла, сахара и аминокислоты. Наиболее часто для анализа таких объектов используется метод хроматографии [2, 3]. В последнее время стали широко применяться методы масс-спектропии и ЯМР на разных ядрах [4].

Цель данного исследования – сравнительный анализ сока и экстрактов семян клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* L.) и клюквы крупноплодной сорта Стивенс (*Oxycoccus macrocarpus* Ait, “Stevens”) с использованием метода ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C , который позволяет одновременно определять наличие в образцах соединений различных классов.

Основная часть. Клюква крупноплодная была выращена на территории лаборатории интродукции и технологии ягодных растений Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, г. Ганцевичи, а клюква болотная собрана на болоте в Пуховичском районе. Перед анализом ягоды промывали дистиллированной водой. Затем выделяли сок и профильтровывали его. После удаления воды (вакуумный испаритель, 40°C) вес сухого остатка для клюквы крупноплодной составил 9,6% от веса выделенного сока, а для клюквы болотной – 9,8%. Для записи спектров сухой остаток растворили в дейтерированной воде (D_2O).

Экстракцию ацилглицеридов из семян проводили при помощи дейтерохлороформа (CDCl_3). Для более эффективного выделения анализируемых компонентов необходимо измельчение семян. Однако применение бытовой кофемолки приводит к тому, что наблюдается разложение растительных жиров до жирных кислот и глицерина [5]. Поэтому перед экстракцией семена были разрезаны пополам. Содержание масел в семенах клюквы крупноплодной с оболочкой составило 6,8%, а болотной – 12,0%.

Оценка содержания сахаров и аминокислот в семенах проводилась после их экстракции непосредственно D_2O . Для уменьшения вероятности попадания в экстракт остатков сока семена промывали дистиллированной водой в течение нескольких часов, а затем высушивали.

После этого их разрезали пополам и оставляли на 15 ч в D_2O для экстракции. Количество водорастворимых веществ в семенах клюквы

крупноплодной составило 5,2%, в семенах клюквы болотной – 2,7% [6, 7].

Спектры ЯМР D_2O и CDCl_3 растворов записывали на спектрометре AVANCE-500 (Bruker) с рабочей частотой 500 и 126 МГц для ядер ^1H и ^{13}C соответственно. Запись проводилась при температуре 293 К в 5-миллиметровых стандартных ампулах. Накопление сигналов для протонных спектров осуществлялось в течение 10 мин, а для углеродных – в течение 12 ч. В качестве внутреннего стандарта для хлороформенных растворов в случае ядер ^1H использовали сигнал CHCl_3 (примесь в CDCl_3 , $\delta = 7,27$ м.д.), для ядер ^{13}C – сигнал растворителя ($\delta = 77,7$ м.д.). Для водных растворов внутренним стандартом служил добавленный в раствор трет-бутанол ($^1\text{H} - \delta = 1,24$ м.д.; $^{13}\text{C} - \delta_{\text{CH}_3} = 30,29$ м.д.). Все экспериментальные данные получены и обработаны с помощью пакета программ XWIN-NMR 3,5. Для идентификации компонентов соков и экстрактов предварительно были записаны спектры индивидуальных веществ (сахаров, органических кислот, аминокислот) [8–11].

На рис. 1 представлены спектры ЯМР сока клюквы болотной в D_2O . Были идентифицированы 4 сахара: глюкоза, фруктоза, сахароза и сорбитол, и 4 кислоты: лимонная, яблочная, хинная и бензойная.

В табл. 1 представлен количественный состав клюквенных соков. Полученные данные свидетельствуют, что крупноплодная клюква содержит почти в 1,5 раза больше сахаров. При этом основным углеводом является глюкоза, а в клюкве болотной присутствует сорбитол, которого нет в заметных количествах в соке клюквы крупноплодной. Содержание органических кислот в $\approx 1,3$ раза больше в соке болотной клюквы. Однако хинная кислота преобладает в клюкве крупноплодной. Необходимо отметить, что в отличие от работы [4] мы не обнаружили шикимовую кислоту, которая имеет характерные сигналы в спектре ^1H ЯМР, но нашли заметные количества бензойной кислоты, которая не обсуждается в [4].

Спектры ЯМР CDCl_3 -экстрактов семян клюквы крупноплодной представлены на рис. 2, отнесение сигналов дано в [12]. Спектры экстрактов семян клюквы болотной подобны приведенным. Из рисунка видно, что хлороформенные экстракты представляют собой раствор триацилглицеридов, в которых присутствуют олеиновая, линолевая, α -линоленовая и насыщенные кислоты. В табл. 2 указано их количественное содержание. Выделенные масла из семян клюквы болотной и крупноплодной практически не отличаются по жирнокислотному составу. Согласно [12, 13] среди насыщенных кислот преобладает пальмитиновая.

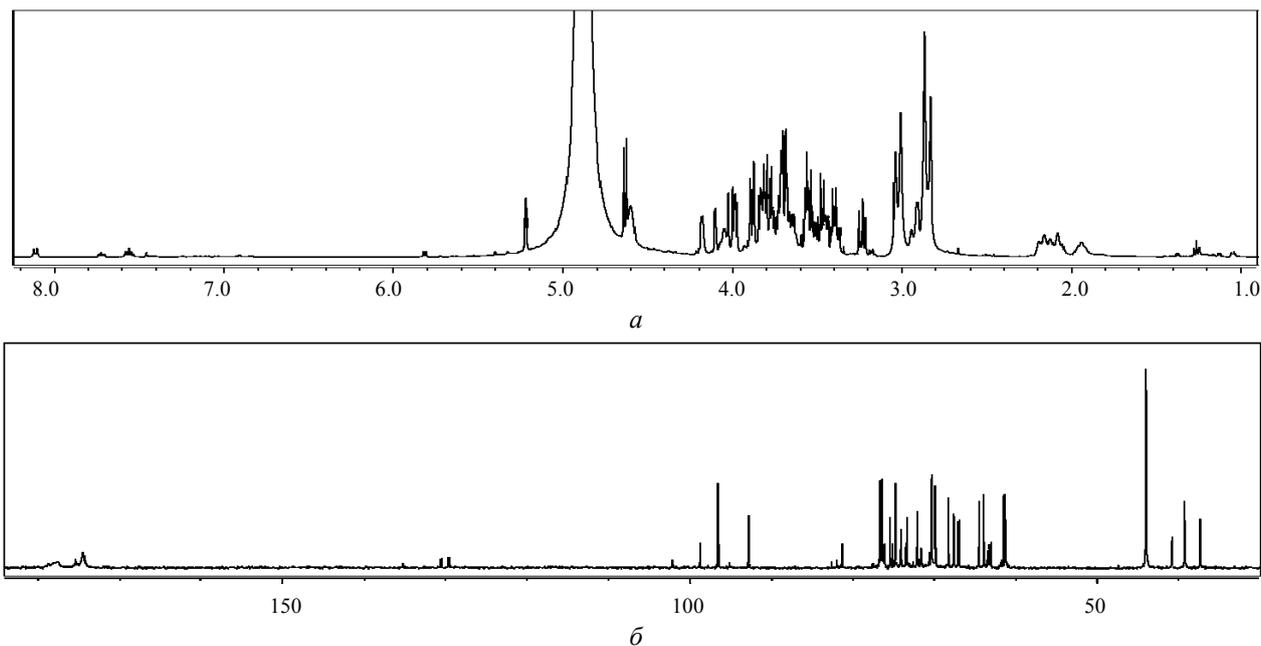
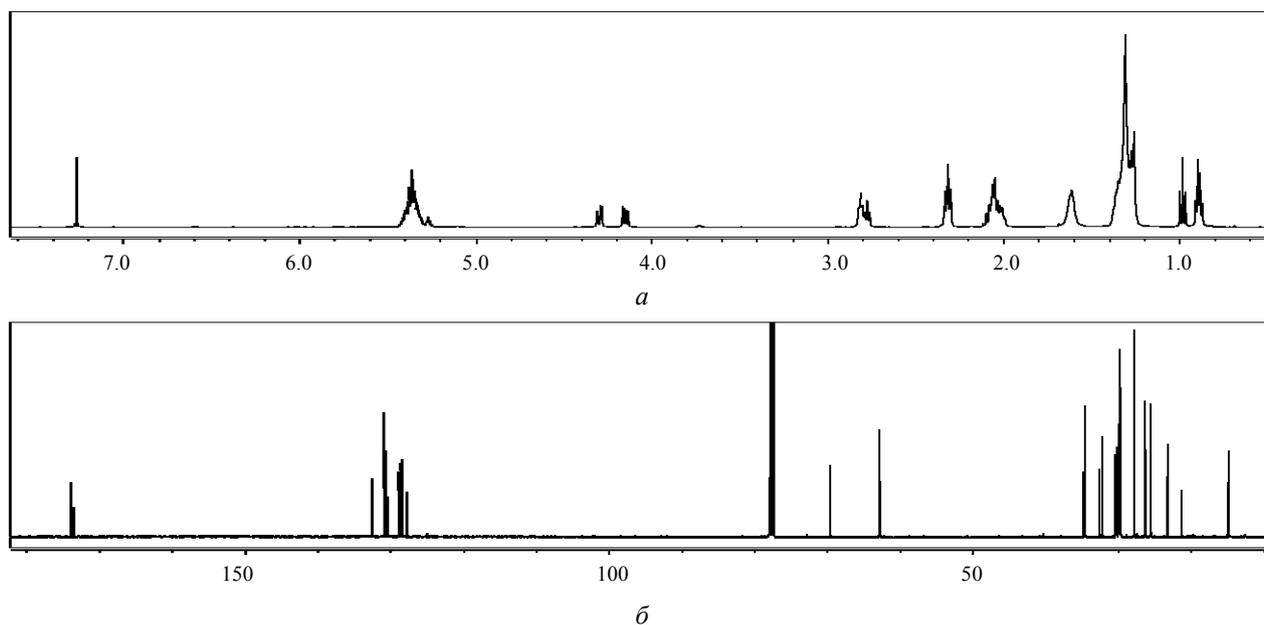
Рис. 1. Спектры ЯМР ^1H (а) и ^{13}C (б) сока клюквы болотной

Таблица 1
Количественный состав сока клюквы (мол. %)

Соединение	Клюква	
	Крупноплодная, сорт Стивенс	Болотная
Глюкоза	46,5	19,6
Фруктоза	8,8	15,1
Сахароза	0,1	0,7
Сорбитол	–	3,0
Лимонная кислота	15,1	25,8
Яблочная кислота	14,4	20,6
Хинная кислота	13,0	9,4
Бензойная кислота	0,3	0,8

Таблица 2
Жирнокислотный состав масла семян клюквы (мол. %)

Кислота	Клюква	
	Крупноплодная, сорт Стивенс	Болотная
Олеиновая	26,1	27,4
Линолевая	39,1	39,8
α -Линоленовая	30,8	30,2
Насыщенные кислоты	3,6	2,2

Рис. 2. Спектры ЯМР ^1H (а) и ^{13}C (б) CDCl_3 -экстракта семян клюквы крупноплодной

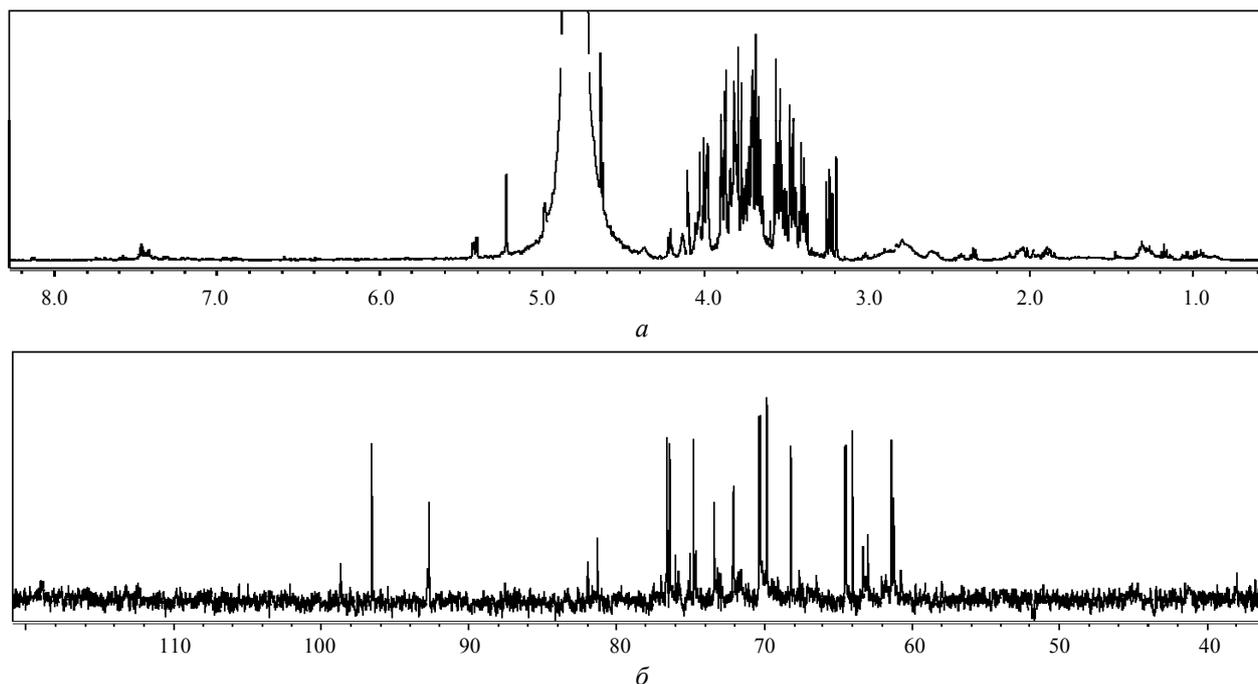


Рис. 3. Спектры ЯМР ^1H (а) и ^{13}C (б) D_2O -экстракта семян клюквы болотной

Интересную информацию можно получить по соотношению интенсивностей углеродных сигналов олефиновых групп. Оказалось, что олеиновая и линолевая кислоты в молекулах триацилглицеридов занимают предпочтительно центральное положение, а α -линоленовая – крайние.

Спектры (D_2O) экстрактов семян клюквы болотной приведены на рис. 3

Аналогичные спектры получены и для экстрактов семян клюквы крупноплодной. В растворах идентифицированы углеводы: сахароза, галактоза, глюкоза и фруктоза, и аминокислоты: гисти-

дин, фенилаланин, тирозин, γ -аминомасляная кислота, пролин, лизин, аргинин, аланин, треонин, валин, изолейцин и лейцин. В отличие от сока в экстракте дополнительно присутствует моносахарид галактоза, протонные спектры которой рассмотрены в [14], а углеродные – в [15]. Отнесение химических сдвигов аминокислот нами дано в [16].

Содержание указанных компонентов приведено в табл. 3. Видно, что количественный состав обоих экстрактов отличается незначительно, обнаруженные аминокислоты присутствуют в сравнимых количествах.

Таблица 3

Состав водных экстрактов семян клюквы (мол. %)

Соединение	Клюква	
	Крупноплодная, сорт Стивенс	Болотная
Сахароза	6,5	3,6
Галактоза	5,0	2,1
Глюкоза	24,8	32,6
Фруктоза	21,2	26,2
Гистидин	–	0,2
Фенилаланин	0,3	0,4
Тирозин	0,3	0,2
γ -Аминомасляная кислота	1,4	0,9
Пролин	1,0	1,2
Лизин	1,5	0,5
Аргинин	0,4	0,3
Аланин	0,6	0,5
Треонин	0,5	0,3
Валин	0,8	0,3
Изолейцин	0,5	0,6
Лейцин	0,3	0,3

Заключение. Сравнительный анализ соков и экстрактов семян клюквы крупноплодной и бо-лотной показал, что в исследованных объектах присутствуют аналогичные наборы компонентов. Качественный и количественный состав экстрак-

тов семян отличается незначительно. Заметные отличия наблюдаются в образцах сока: в соке клюквы крупноплодной содержится больше са-харов, но меньше органических кислот, что ска-зывается на вкусовых качествах этих ягод.

Литература

1. Мануковская М. В., Серченя М. В. Использование современных технологий в приготовлении настоек // Экономика. Инновации. Управление качеством. 2015. № 2. С. 130–133.
2. Лютикова М. Н., Ботиров Э. Х. Химический состав и практическое применение ягод брусни-ки и клюквы // Химия растительного сырья. 2015. № 2. С. 5–27.
3. Бутенко Л. И., Лигай Л. В. Сублимационный порошок клюквы – источник витамина С и ами-нокислот // Международный журнал экспериментального образования. 2011. № 6. С. 82–84.
4. Hydrophilic carboxylic acids and iridoid glycosides in the juice of American and European cranberries (*Vaccinium macrocarpon* and *V. oxycoccos*), lingonberries (*V. vitis-idaea*), and blueberries (*V. myrtillus*) / H. D. Jensen [et al.] // J. Agric Food Chem. 2002. Vol. 50. P. 6871–6874.
5. ЯМР анализ хлороформенных экстрактов семян чернушки / Е. Д. Скаковский [и др.] // Труды БГТУ. 2015. № 4: Химия, технология органических веществ и битехнология. С. 234–239.
6. Предварительная оценка состава сока яблок с использованием ядерного магнитного резонанса / Е. Д. Скаковский [и др.] // Плодоводство. 2013. Т. 25. С. 469–480.
7. The anti-thrombotic active constituents from *Centella asiatica* / T. Satake [et al.] // Biol. Pharm. Bull. 2007. Vol. 30. No. 5. P. 935–940.
8. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp3&imgdir=hsh&fname=HSP01671&sdbno=673 (дата обращения: 18.01.2018).
9. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=hsh&fname=HSP04970&sdbno=1995 (дата обращения: 18.01.2018).
10. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=cds&fname=CDS04578&sdbno=673 (дата обращения: 18.01.2018).
11. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=cds&fname=CDS11804&sdbno=1995 (дата обращения: 18.01.2018).
12. Анализ масла семян ягод растений семейства вересковых / К. П. Колнагоров [и др.] // Структура и динамика молекулярных систем: сб. ст. Яльчик, 2010. С. 140–143.
13. Tsybaly I. N., Storozhok N. M. Bioactive lipids and antioxidants cranberry, lingonberry and thistle // Butlerov Communications. 2012. Vol. 47. No. 9. P. 150–155.
14. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=hsh&fname=HSP49668&sdbno=1183 (дата обращения: 18.01.2018).
15. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=cds&fname=CDS07026&sdbno=1183 (дата обращения: 18.01.2018).
16. Состав водных экстрактов соцветий календулы методом ЯМР / С. Н. Шиш [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 2017. № 3. С. 45–52.

References

1. Manukovskaja M. V., Serchenja M. V. Use of modern technologies in the preparation of tinctures. *Ekonomika. Innovacii. Upravlenie kachestvom* [Economy. Innovation. Quality control]. 2015, no. 2, pp. 130–133 (In Russian).
2. Ljutikova M. N., Botirov E. H. Chemical composition and practical application of berries of cranber-ries and cranberries. *Himija rastitel'nogo syr'ja* [Chemistry of plant raw materials], 2015, no. 2, pp. 5–27 (In Russian).
3. Butenko L. I., Ligaj L. V. Sublimation cranberry powder – a source of vitamin C and amino acids. *Mezhdunarodnyj zhurnal jeksperimental'nogo obrazovanija* [International Journal of Experimental Education], 2011, no. 6, pp. 82–84 (In Russian).

4. Jensen H. D., Krogfelt K. A., Cornett C., Hansen S. H., Christensen S. B. Hydrophilic carboxylic acids and iridoid glycosides in the juice of American and European cranberries (*Vaccinium macro-carpon* and *V. oxycoccus*), lingonberries (*V. vitis-idaea*), and blueberries (*V. myrtillus*). *J. Agric Food Chem.*, 2002, vol. 50, pp. 6871–6874.

5. Skakovskiy E. D., Tychinskaja L. Ju., Shish S. N., Shutova A. G., Lamotkin S. A. NMR analysis of chloroform extracts of black cherry seeds. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], 2015, no. 4: Chemistry, Organic Substances Technology and Biotechnology, pp. 234–239 (In Russian).

6. Skakovskij E. D., Tychinskaja L. Yu., Molchanova O. A., Kolechkina A. I., Kuharchik N. V., Kapichnikova N. G. Preliminary evaluation of apple juice composition using nuclear magnetic resonance. *Plodovodstvo* [Fruit-growing], 2013, vol. 25, pp. 469–480 (In Russian).

7. Satake T., Kamiya K., An Y., Oishi T., Yamamoto J. The anti-thrombotic active constituents from *Centella asiatica*. *Biol. Pharm. Bull.*, 2007, vol. 30, no. 5, pp. 935–940.

8. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp3&imgdir=hsh&fname=HSP01671&sdbno=673 (accessed 01.18.2018).

9. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=hsh&fname=HSP04970&sdbno=1995 (accessed 01.18.2018).

10. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=cds&fname=CDS04578&sdbno=673 (accessed 01.18.2018).

11. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=cds&fname=CDS11804&sdbno=1995 (accessed 01.18.2018).

12. Kolnagorov K. P., Skakovskij E. D., Tychinskaja L. Yu., Gajdukevich O. A., Danilova O. A., Lamotkin S. A., Rykov S. V. Analysis of seed oil of berries of plants of the heather family. *Struktura i dinamika molekulyarnyh system: sbornik statej* [Structure and dynamics of molecular systems. Digest of articles], 2010, pp. 140–143 (In Russian).

13. Tsybmal I. N., Storozhok N. M. Bioactive lipids and antioxidants cranberry, lingonberry and thistle. *Butlerov Communications*, 2012, vol. 47, no. 9, pp. 150–155.

14. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=hsh&fname=HSP49668&sdbno=1183 (accessed 01.18.2018).

15. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp&imgdir=cds&fname=CDS07026&sdbno=1183 (accessed 01.18.2018).

16. Shish S. N., Shutova A. G., Skakovskiy E. D., Tychinskaja L. Ju. Composition of aquatic inflorescences of extracts of calendula inflorescence by NMR method. *Vestsi NAN Belarusi. Ser. him. navuk* [Proceedings of NAS of Belarus. Chemical series], 2017, no. 3, pp. 45–52 (In Russian).

Информация об авторах

Скаковский Евгений Доминикович – кандидат химических наук, заведующий лабораторией физико-химических методов исследования. Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси (220072, г. Минск, ул. Сурганова, 13, Республика Беларусь). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Тычинская Людмила Юльевна – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследования. Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси (220072, г. Минск, ул. Сурганова, 13, Республика Беларусь). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Латышевич Дарья Николаевна – младший научный сотрудник. Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси (220072, г. Минск, ул. Сурганова, 13, Республика Беларусь). E-mail: dashalatyshovich@yandex.ru

Шиш Светлана Николаевна – аспирант, младший научный сотрудник отдела биохимии и биотехнологии растений. Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси (220012, г. Минск, ул. Сурганова, 2в, Республика Беларусь). E-mail: svetlana.shysh@gmail.com.

Ламоткин Сергей Александрович – кандидат химических наук, доцент кафедры физико-химических методов сертификации продукции. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, республика Беларусь). E-mail: jossby@rambler.ru

Information about the authors

Skakovskii Evgenii Dominikovich – PhD (Chemistry), head of the Laboratory of Physic-Chemical Methods of Research. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganova str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Tychinskaya Lyudmila Yulievna – PhD (Chemistry), Leading Researcher, the Laboratory of Physico-Chemical Methods of Research. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Surganova str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Latyshevich Dar'a Nikolaevna – Junior Researcher. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Science of Belarus (13, Surganova str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dashalatyshevich@yandex.ru

Shysh Svetlana Nikolaevna – PhD student, Junior Researcher, the Department of Biochemistry and Plant Biotechnology. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Surganova str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: svetlana.shysh@gmail.com.

Lamotkin Sergey Aleksandrovich – PhD (Chemistry), Assistant Professor, the Department of Physical and Chemical Methods for Products Certification Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jossby@rambler.ru

Поступила 02.04.2018