

ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНО-ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *RUBUS*

Н.Ю. Колбас, В.Н. Решетников*

УО «Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина», Брест, Республика Беларусь

*ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение

В условиях усиливающегося эколого-производственного прессинга, некачественного питания, а так же в результате перенесенных инфекционных заболеваний, концентрация свободных радикалов в клетках организма человека может достигать уровня, при котором его собственная антиоксидантная система не справляется с дезактивацией повреждающих агентов. Возникающий при этом «окислительный стресс» является одной из причин преждевременного старения организма, развития многих патологических состояний, в том числе онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний [1].

Для фармакологической коррекции окислительного стресса широко используют природные или синтетические вещества различного химического строения, обладающие антиоксидантной активностью (АОА). При этом лекарственные средства растительного происхождения имеют ряд преимуществ перед их синтетическими аналогами. Фитопрепараты наряду с основными биологически активными соединениями (БАС) содержат сопутствующие вещества, которые могут усиливать или пролонгировать фармакологическое действие и, в дополнение к этому, понижать токсичность используемых препаратов, обеспечивая тем самым мягкий и выраженный терапевтический эффект [2]. Химическая структура препаратов природного происхождения близка к структуре метаболитов организма человека, что обусловлено его эволюционной адаптацией, а, соответственно, эти БАС легче подвергаются воздействию ферментативных систем, чем их синтетические аналоги [1]. Таким образом, актуальным становится поиск новых нетоксичных, легкодоступных и дешевых источников природных антиоксидантов (АО), каковыми могут служить плоды представителей рода *Rubus* L. (семейство Rosaceae Juss.).

Установлено, что в окислительно-восстановительных реакциях при большой концентрации АО становятся прооксидантами [3], следовательно, перед рекомендацией к применению возникает необходимость тестировать фитопрепараты на их АОА. В работах [4, 5] показано, что для определения общей АОА как индивидуальных веществ, так и их смесей, наилучшим подходом является применение нескольких методов, которые характеризуются разными механизмами действия и условиями проведения (температура, pH, время инкубации). АО дезактивируют свободные радикалы в результате переноса атома водорода – *HAT*-механизм (*Hydrogen Atom Transfer*) или электрона – *SET*-механизм (*Single Electron Transfer*). Эти же механизмы лежат в основе модельных реакций детектирования АОА, в соответствии с чем и методы определения АОА подразделяют на три группы [4]:

- ✓ *HAT*-методы (к этой группе методов относится тест *ORAC*);
- ✓ *SET*-методы (тест *FRAP*);
- ✓ комбинированные методы, основанные на поэтапном переносе атома водорода и электрона (как в случае теста *ABTS*).

Для оценки общей АОА водно-этанольных экстрактов плодов представителей рода *Rubus* L. мы применяли три метода определения АОА *in vitro*, которые в настоящее время широко используются в биохимических исследованиях и позволяют выявить действие как гидрофильных, так и липофильных АО. Первый метод – *ORAC* (*Oxygen Radical Absorption Capacity*) основан на измерении поглотительной способности анализируемыми веществами кислород-радикалов, источником которых является 2,2'-азобис-(2-амидинопропан)

дигидрохлорид [6]. В основе второго метода определения АОА лежит способность АО блокировать долгоживущий катион-радикал 2,2'-азинобис[3-этил-2,3-дигидро-6-бензотиазол-сульфокислоты] ($ABTS^{•+}$) [7]. Третий метод – *FRAP* (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) позволяет оценить АОА непосредственно в пробе за счет восстановления $Fe(III)$ -трипиридилтриамина в $Fe(II)$ -комплекс [8]. По способу регистрации АОА первый метод является флуорисцентным, а два другие – спектрофотометрическими [5]. Отметим так же, что одним из условий проведения этих тестов является фиксированное значение рН среды: 7,4 – для *ORAC* и 3,6 – для *FRAP*. Тест *ABTS* характеризуется схожей результативностью в широком диапазоне рН. Использование методов с различными значениями рН важно в данном исследовании, так как одними из доминирующих АО плодов изучаемых растений являются антоцианы [9], химическое строение которых, а, следовательно, и их биологическая активность, зависят от рН среды [10]. Рассмотренные три метода показали свою действенность в комплексной оценке АОА плодов различных сортов *Vitis vinifera* L., что описано нами ранее [11].

Изучению АОА плодов представителей рода *Rubus* L. посвящен ряд работ [12–14], в которых авторы отмечают их высокий антиоксидантный потенциал. Род *Rubus* L. обладает выраженным полиморфизмом [15], что делает необходимым изучение АОА его отдельных представителей с целью выявления наиболее перспективных источников АО. В исследованиях Мoyer с соавторами (2002) [12] представлены данные по АОА плодов 7-ми видов: *R. caryocarpum* Juz., *R. georgicus* Focke, *R. insularis* F. Aresch., *R. ursinus* (Cham. Schltdl.), *R. innominatus* S. Moore, *R. niveus* Thunb., *R. occidentalis* L. В работе Netzel с соавторами (2006) [13] изучена АОА плодов 8-ми представителей флоры Австралии, среди которых *R. moluccanus* var. *austropacificus* Royen. Биохимический состав и АОА 6-ти сортов *R. idaeus* L. и 4-х сортов *R. fruticosus* L. описаны в статье Sariburun с соавторами (2010) [14]. Ранее нами был изучен антиоксидантный потенциал плодов 3-х представителей флоры Брестского Полесья: *R. caesius* L., *R. nessensis* W. Hall. и *R. idaeus* L. и отмечена перспективность данных растений как источников АО [16]. Помимо проявляемого антиоксидантного действия, плоды растений рода *Rubus* L. могут служить источником полезных и легкоусвояемых БАС [9], таких как пектиновые вещества, фитостерины, органические кислоты, витамины, танины, биофлавоноиды, в том числе антоцианы. Однако свежее растительное сырье не может долго сохранять свои полезные свойства, поэтому его необходимо подвергать правильной обработке, позволяющей максимально сохранить БАС.

Целью данной работы является оценка общей АОА водно-этанольных экстрактов плодов 4-х представителей рода *Rubus* L.

В соответствии с целью данного исследования были поставлены следующие задачи:

- 1) с помощью методов *ORAC*, *ABTS* и *FRAP* определить АОА водно-этанольных экстрактов плодов изучаемых видов;
- 2) провести количественный анализ фенольных соединений;
- 3) изучить корреляционную связь между АОА и общим количеством фенольных соединений (ОКФС), а так же общим количеством антоцианов (ОКА) водно-этанольных экстрактов;
- 4) проанализировать межвидовые различия изученных параметров.

Методы исследования

Представители рода *Rubus* L., произрастающие в естественных фитоценозах на территории Франции – *Rubus fruticosus* L. и Республики Беларусь – *Rubus caesius* L., *Rubus nessensis* W. Hall, *Rubus idaeus* L., были идентифицированы согласно определителям [15, 17]. Свежесобранные плоды подвергали глубокой заморозке при температуре – 40°C, затем сушили сублимацией без доступа света (лиофилизатор Alpha 2–4, Christ, Германия) и измельчали до частиц диаметром 1 мм (вибрационная мельница MM 200, Retsch, Германия). БАС из измельченных плодов извлекали в два этапа 50%-ным этанолом, согласно рекомендациям [18], в соотношении 1 г к 10 мл. Каждый этап экстракции длился 10 минут

при температуре +22°C и максимальном давлении 1500–1700 *psi*, в инертной атмосфере азота с применением экстрактора ASE-350 (Dionex, США).

Измерение АОА методом *ORAC* проводили по методике, описанной Dávalos с соавторами (2004) [19]. Для измерений использовали комбинированный спектрофлуориметр BMG LABTECH (Германия) с устройством для считывания микропланшеты на 96 ячеек. Используемая длина волны возбуждения составила 485 нм, волны испускания – 530 нм.

При определении АОА методом *ABTS* регистрировали изменение оптической плотности смеси рабочего раствора катион-радикала *ABTS* и анализируемого экстракта в течение 10 минут при длине волны 734 нм, температуре +25°C и постоянном перемешивании [7]. Раствор *ABTS*⁺ готовили по методике Riedl (2001) [20] и доводили 50%-ным этанолом до значения абсорбции $0,7 \pm 0,02$ при $\lambda=734$ нм. Измерения проводили на спектрофотометре Proscan MC 122 (РБ).

В качестве стандарта АОА для этих двух методов применяли гидрофильный аналог токоферола – тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8- тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) [21]. Для построения калибровочной кривой использовали эффективный диапазон концентраций тролокса (CAS № 53188-07-1, Aldrich, США) от 1 до 20 мкмоль/л фосфатного буфера (рН 7,4) для метода *ORAC* и от 50 до 300 мкмоль/л 50%-ного этанола для испытания с катион-радикалом *ABTS*⁺. АОА исследуемых экстрактов выражали в мкмоль тролокс-эквивалента (ТЭ) на миллилитр, учитывая квадратичную зависимость АОА стандарта от его концентрации при среднем $R^2=0,998$.

Определение АОА методом *FRAP* проводили по модифицированной методике, описанной Dudonné с соавторами (2009) [22]. Оптическую плотность анализируемой смеси регистрировали при $\lambda=593$ нм, используя комбинированный спектрофлуориметр BMG LABTECH (Германия). АОА, определенную этим методом, выражали в единицах мкмоль Fe^{+2} на миллилитр водно-этанольного экстракта.

Для количественного анализа фенольных соединений проводили реакцию аликвотного объема водно-экстракта с реактивом Folin-Ciocalteu согласно методике [23]. ОКФС рассчитывали в мкмоль галловой кислоты (ГК) на миллилитр водно-этанольного экстракта, учитывая линейную зависимость концентрации ГК от оптической плотности раствора при длине волны 765 нм и среднем $R^2=0,989$.

Все опыты проводили в трехкратной повторности. Для статистической обработки полученных данных применяли программу R software version 2.9.2.

Результаты и обсуждение

Полученные данные об АОА водно-этанольных экстрактов плодов 4-х представителей рода *Rubus* L. представлены в таблице 1. Значения АОА (в мкмоль ТЭ/мл), установленные методами *ORAC* и *ABTS*, варьировали от 2,81 до 9,14 и от 4,91 до 11,00, соответственно. АОА экстрактов, определенная методом *FRAP* составила от 4,19 до 6,58 мкмоль Fe^{+2} /мл.

Таблица 1 – Антиоксидантная активность водно-этанольных экстрактов 4-х представителей рода *Rubus* L.

Метод	<i>R. caesius</i>	<i>R. fruticosus</i>	<i>R. nessensis</i>	<i>R. idaeus</i>
<i>ORAC</i> (мкмоль ТЭ/мл)	9,05 ^a ±0,29	9,14 ^a ±0,46	9,03 ^a ±0,61	2,81 ^b ±0,08
<i>ABTS</i> (мкмоль ТЭ/мл)	10,43 ^a ±0,22	9,24 ^b ±0,14	11,00 ^a ±0,26	4,91 ^c ±0,10
<i>FRAP</i> (мкмоль Fe^{+2} /мл)	6,58 ^a ±0,23	5,21 ^b ±0,07	6,47 ^a ±0,26	4,19 ^c ±0,2

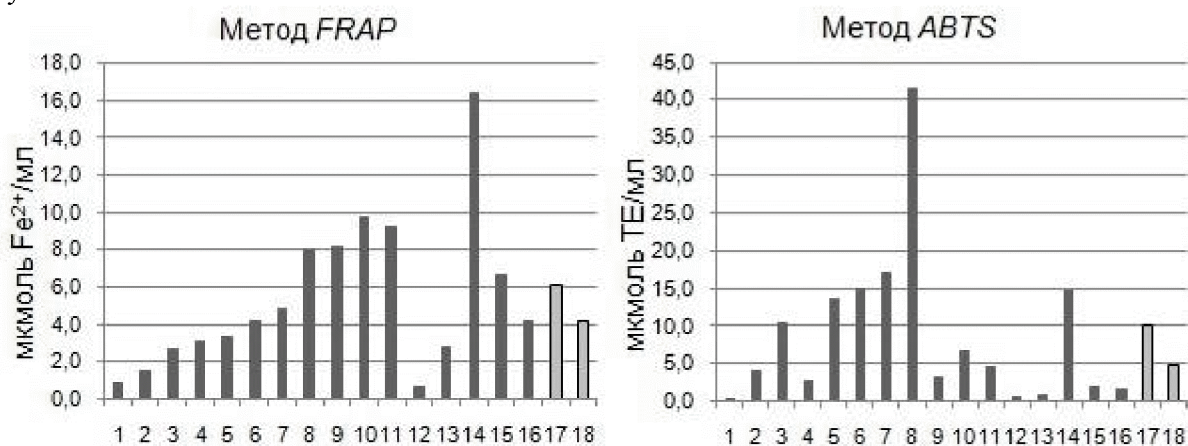
Примечание. ТЭ – тролокс-эквивалент; a, b, c – статистические различия (*Tukey-test*).

Проведенный статистический анализ *ANOVA* (*Analysis of Variation*) не выявил достоверных различий значений АОА, определенной методом *ORAC* для водно-этанольных экстрактов плодов *R. fruticosus*, *R. nessensis* и *R. caesius*, а так же методами *ABTS* и *FRAP* для *R. nessensis* и *R. caesius*. Различия между значениями АОА, измеренных всеми тремя методами, были достоверны для водно-этанольных экстрактов плодов *R. idaeus* и

темноплодных представителей рода *Rubus* L. (*R. fruticosus*, *R. nessensis* и *R. caesius*). Согласно данным, полученным методом *ORAC*, снижение АОА водно-этанольных экстрактов наблюдается в ряду: *R. fruticosus*≈*R. nessensis*≈*R. caesius*>*R. idaeus*. Результаты тестов *ABTS* и *FRAP* демонстрируют одинаковую тенденцию уменьшения АОА в ряду: *R. nessensis*≈*R. caesius*>*R. fruticosus*>*R. idaeus*.

Katalinic с соавторами (2006) [24], изучив данные об АОА (метод *FRAP*) экстрактов 70-ти лекарственных растений, предложили разделить исследованные объекты на пять групп. К первой группе авторы отнесли лекарственные растения, экстракты которых характеризуются очень низкой АОА при значении этого параметра менее 1 мкмоль Fe^{+2} /мл, ко второй группе – растения с низкой АОА экстрактов (от 1 до 5), к третьей группе – растения со средней АОА экстрактов (от 5 до 10), к четвертой группе – растения с высокой АОА экстрактов (от 10 до 20) и к пятой группе – лекарственные растения, экстракты которых характеризуются очень высокой АОА более 20 мкмоль Fe^{+2} /мл. Согласно предложенной классификации, в соответствии с результатами метода *FRAP*, экстракты плодов 3-х изученных нами растений относятся к группе со средней АОА (темноплодные виды) и одного – к группе с низкой АОА (*R. idaeus*).

В целом, результаты наших исследований сопоставимы с литературными данными. Так в работе Mullen с соавторами (2007) [25] АОА 13-ти исследованных соков разных фирм-производителей составила от 0,9 до 15 мкмоль ТЭ/мл (тест *ORAC*) и 1,6–10,1 мкмоль Fe^{+2} /мл (тест *FRAP*). По данным Seeram с соавторами (2008) [26] АОА 12-ти напитков варьировала (в мкмоль ТЭ/мл) от 4,8 до 25,7 (данные метода *ORAC*) и от 3,6 до 41,6 (данные метода *ABTS*), а так же от 1,2 до 8,1 мкмоль Fe^{+2} /мл (результаты метода *FRAP*). В статье Pellegrini с соавторами (2003) [27] оценена АОА 34-х наиболее употребляемых напитков. Представленные авторами результаты лежат в широком диапазоне и, в среднем, составили 0,65–129,38 мкмоль Fe^{+2} /мл (для метода *FRAP*) и 0,09–36,54 мкмоль ТЭ/мл (для метода *ABTS*). Для установления места объектов нашего исследования среди имеющихся литературных данных, мы сопоставили средние результаты АОА для водно-этанольных экстрактов ежевики (*R. fruticosus*, *R. nessensis* и *R. caesius*) и малины (*R. idaeus*) со средними значениями АОА 16-ти наиболее употребляемых напитков [25–27], что представлено на рисунке 1.



1 – кола; соки: 2 – апельсиновый, 3 – клюквенный, 4 – яблочный, 5 – вишневый, 6 – черничный, 7 – виноградный, 8 – гранатовый, 9 – грейпфрутовый; чай: 10 – зеленый, 11 – черный, 12 – ромашковый; пиво: 13 – пиво; вино: 14 – красное, 15 – розовое, 16 – белое; водно-этанольные экстракты: 17 – ежевики, 18 – малины

Рисунок 1 – Антиоксидантная активность напитков [25–27] и водно-этанольных экстрактов плодов ежевики и малины

Значения ОКФС водно-этанольных экстрактов плодов варьировали от 4,8 до 8,27 мкмоль ГК/мл (таблица 2) и снижались в ряду: *R. nessensis* > *R. caesius* > *R. fruticosus* > *R. idaeus*.

Для определения вклада фенольных соединений в общую АОА Vinson с соавторами (2001) предложили применять фенол-антиоксидантный индекс (ФАОИ) [28], который был рассчитан как отношение значений ОКФС к АОА. В своей работе Vinson с соавторами отмечают, что для фруктов ФАОИ выше, чем для овощей и объясняют это не только высоким содержанием фенольных соединений, но и значительным их антиоксидантным потенциалом. Данные о ФАОИ для водно-этанольных экстрактов в соответствии с результатами каждого из трех методов АОА представлены в таблице 2. Средние значения этого показателя для темноплодных представителей составили от 0,71 до 0,92, что указывает на высокую антиоксидантную способность полифенолов водно-этанольных экстрактов плодов *R. fruticosus*, *R. nessensis* и *R. caesius*. Для водно-этанольных экстрактов плодов *R. idaeus* при относительно высоком содержании фенольных соединений проявляемая АОА несопоставимо низкая, а ФАОИ немного больше единицы. Вероятно, полифенолы плодов *R. idaeus* имеют более низкую антиоксидантную способность, чем фенольные соединения темноплодных представителей *Rubus L.*

Примененный в данном исследовании метод двухступенчатой экстракции БАС 50%-ным этанолом показал свою эффективность при извлечении антоцианов [29]. ОКА в пересчете на микромоль цианидин-глюкозида, содержащегося в миллилитре водно-этанольного экстракта составило от 0,56 до 2,28 (таблица 2). Изученные растения можно распределить в порядке уменьшения этого показателя для водно-этанольных экстрактов их плодов следующим образом: *R. caesius* ≈ *R. nessensis* > *R. fruticosus* > *R. idaeus*. Подробный состав антоцианового комплекса изученных экстрактов представлен нами ранее [29].

По аналогии с ФАОИ для определения вклада антоцианов в общую АОА нами был рассчитан антоциан-антиоксидантный индекс (А-АОИ) как отношение значений ОКА к АОА для каждого из методов. При этом среднее значение этого показателя варьировало от 0,15 до 0,27 (таблица 2). Таким образом, антоцианы водно-этанольных экстрактах плодов изученных нами растений обеспечивают практически четверть всей АОА.

Таблица 2 – Общее количество фенольных соединений (ОКФС), фенол-антиоксидантные индексы (ФАОИ), общее количество антоцианов (ОКА) и антоциан-антиоксидантные индексы (А-АОИ) водно-этанольных экстрактов 4-х представителей рода *Rubus L.*

Параметр	<i>R. caesius</i>	<i>R. fruticosus</i>	<i>R. nessensis</i>	<i>R. idaeus</i>
ОКФС (мкмоль ГК/мл)	7,70 ^a ±0,41	5,21 ^b ±0,18	8,27 ^c ±0,12	4,80 ^d ±0,17
ФАОИ _{ORAC}	0,85	0,57	0,92	1,71
ФАОИ _{ABTS}	0,74	0,56	0,75	0,98
ФАОИ _{FRAP}	1,17	1,00	1,28	1,14
ФАОИ*	0,92	0,71	0,98	1,28
ОКА (мкмоль Ц-гл/мл)	2,06 ^a ±0,02	1,52 ^b ±0,02	2,28 ^a ±0,04	0,56 ^c ±0,01
А-АОИ _{ORAC}	0,23	0,17	0,25	0,20
А-АОИ _{ABTS}	0,20	0,16	0,21	0,11
А-АОИ _{FRAP}	0,31	0,29	0,35	0,13
А-АОИ*	0,25	0,21	0,27	0,15

Примечание. ГК – галловая кислота; Ц-гл – цианидин глюкозид; * – среднее значение параметра; *a, b, c, d* – статистические различия (*Tukey-test*).

Проведенный нами статистический анализ выявил достаточно высокую положительную корреляцию между ОКФС и АОА (таблица 3), что подтверждает сведения других авторов [12–14, 22, 24–28, 30], а так же данные предыдущих наших исследований [11, 16]. Литературные сведения исследования зависимости АОА от ОКА весьма разнятся. Ряд

авторов [12, 30] в своих работах указывают на наличие корреляции между этими параметрами, а некоторые авторы [13–14] – на ее отсутствие. В данной работе мы проанализировали корреляционную связь между ОКА водно-этанольных экстрактов 4-х представителей рода *Rubus* L. и их АОА, оцененной тремя различными методами (таблица 3). Отметим высокий коэффициент корреляции между ОКА и методами *ORAC*, *ABTS* – 0,88 и 0,84 соответственно, что достоверно при данном количестве сравниваемых пар значений с уровнем значимости 0,001. Коэффициент корреляции между методом *FRAP* и ОКА несколько меньше ($r=0,52$ достоверен при уровне значимости 0,05), что позволяет предположить о более низкой АОА антоцианов в кислой среде по сравнению с нейтральной. Кроме того, вероятно эта особенность указывает на преобладание водород-донорного механизма антиоксидантного действия антоцианов над электрон-донорным. В целом, проведенный корреляционный анализ указывает на действительное существование связи между концентрацией фенольных соединений, в общем, и антоцианов, в частности, с проявляемой растительными экстрактами АОА.

Таблица 3 – Коэффициенты корреляции (*r*-Pearson) между результатами трех методов определения антиоксидантной активности (*ORAC*, *ABTS*, *FRAP*), общим количеством фенольных соединений (ОКФС) и общим количеством антоцианов (ОКА)

	<i>ABTS</i>	<i>FRAP</i>	ОКФС	ОКА
<i>ORAC</i>	0,89***	0,76**	0,90***	0,88***
<i>ABTS</i>		0,55*	0,88***	0,84***
<i>FRAP</i>			0,72**	0,52*
ОКФС				0,86***

Примечание. *** – уровень значимости (*P*) менее 0,001; ** – *P* от 0,001 до 0,009; * – *P* от 0,01 до 0,05.

Выводы

Использованные в данном исследовании методы определения АОА (*ORAC*, *ABTS* и *FRAP*) показали свою эффективность и репрезентативность при анализе водно-этанольных экстрактов 4-х представителей рода *Rubus* L. Достаточно высокая положительная корреляция между ОКА и значениями АОА, выявленными двумя тестам - *ORAC* и *ABTS*, позволяют рекомендовать эти методики к применению в качестве стандартных при определении АОА антоцианосодержащего растительного сырья.

Выявлено отсутствие достоверных различий в значениях АОА для экстрактов плодов растений *R. nessensis* и *R. caesius*, произрастающих на территории РБ, что необходимо учитывать при заготовке данного растительного сырья для последующего использования в качестве фитопрепаратов в форме водно-этанольных экстрактов. Имеющиеся сведения о терапевтических свойствах, а также полученные данные об общей АОА и достаточно высоком содержании полифенолов, в том числе антоцианов, позволят в перспективе использовать водно-этанольные экстракты плодов *R. fruticosus*, *R. nessensis*, *R. caesius* и *R. idaeus* как фитопрепараты поливалентного действия.

Список литературы

1. Барабой, В.А. Антиоксиданты и здоровье / В.А. Барабой // Валеология: диагностика, средства и практика обеспечения здоровья: сб. науч. тр. – Санкт-Петербург: НИИ медицинских проблем формирования здоровья, 1993. – Вып. 1. – С. 107–115.
2. Авдеева, Е.В. Получение галеновых препаратов из плодов расторопши пятнистой / Е.В. Авдеева // Фармация. – 2006. – № 6. – С. 43–45.
3. Природные антиоксиданты – надежная защита человека от опасных болезней и старения / Я.И. Яшин [и др.] // Москва: Транслит, 2009. – 212 с.

4. Prior, R.L. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements / R.L. Prior, X. Wu, K. Schaich // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – Vol. 53, № 10. – P. 4290–4302.
5. Хасанов, В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // *Химия растительного сырья.* – 2004. – №3. – С. 63–75.
6. Cao, G.H. Oxygen Radical Absorbency Capacity Assay for Antioxidants / G.H. Cao, H.M. Alessio, R.G. Cutler // *Free Radical Biol. Med.* – 1993. – Vol. 3, № 14. – P. 303–311.
7. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re [et al.] // *Free Radical Biol. Med.* – 1999. – Vol. 26, № 9/10. – P. 1231–1237.
8. Benzie, I.F.F. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay / I.F.F. Benzie, J.J. Strain // *J. Anal. Biochem.* – 1996. – № 239. – P. 70–76.
9. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав и использование / отв. ред. П.Д. Соколов [и др.] – Ленинград: Наука, 1987. – Т. 3, Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. – 326 с.
10. Glories, Y. La couleur des vins rouges 2ème partie / Y. Glories // *Conng. Vigne Vin.* – 1984. – №18. – P. 253–271.
11. Kolbas, N. Antioxidant capacity and phenolic content of grapes four typical bordeaux cultivars / N. Kolbas, I. Ky, V. Reshetnikov, P.-L. Teissedre // 9th Intern. Symp. Oenology «OENO 2011», 15–17 June 2011, Bordeaux, France. – ISVV, Bordeaux, 2011. – P. 113–115.
12. Anthocyanins, Phenolics and Antioxidant Capacity in Diverse Small Fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes* / R.A. Moyer [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2002. – Vol. 50, № 3. – P. 519–525.
13. Anthocyanins in Selected Native Australian Fruits / M. Netzel [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – Vol. 54, № 26. – P. 9820–9826.
14. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Raspberry and Blackberry Cultivars / E. Sariburun [et al.] // *J. Food Sci.* – 2010. – Vol. 75, № 4. – P. 328–335.
15. Bonnier, G. La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier / G. Bonnier, R. Douin. – Paris: Belin, 1990. – Т. 3. – P. 332–335.
16. Колбас, Н.Ю. Антиоксидантный потенциал некоторых представителей семейства Rosaceae флоры Брестского Полесья / Н.Ю. Колбас, А.П. Колбас // сб. науч. ст. Рег. науч.-практич. конф. «Новые подходы экологической оптимизации хозяйственных угодий и приграничных территорий Белорусского Полесья», 16–17 июня 2011г., Брест. гос. ун-т им. А.С. Пушкина; под общ. ред. А.С. Шика. – Брест: БрГУ, 2011. – С. 24–27.
17. Определитель высших растений Беларуси / Под ред. В.И. Парфенова. – Минск: Дизайн ПРО, 1999. – 472 с.
18. Настои и композиции водно-спиртовые из растительного сырья. Общие технические условия: СТБ 924–2008. – Введен 01.12.2008. – Минск: Государственный комитет по стандартизации Республики Беларусь, 2008. – 16 с.
19. Dávalos, A. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay / A. Dávalos, C. Gomez-Cordoves, B. Bartolome // *J. Agric. Food Chem.* – 2004. – Vol. 52, № 1. – P. 48–54.
20. Riedl, K.M. Tannin-protein complexes as radical scavengers and radical sinks / K.M. Riedl, A.E. Hagerman // *J. Agric. and Food Chem.* – 2001. – Vol. 49, № 10. – P. 4917–4923.
21. Peroxynitrite causes DNA damage and oxidation of thiols in rat thymocytes / M.G. Salgo [et al.] // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 1995. – Vol. 322, № 2. – P. 500–505.
22. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC Assays / S. Dudonné [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57, № 5. – P. 1768–1774.
23. Waterhouse, A.L. Determination of Total Phenolics/ A.L. Waterhouse // *Current Protocols in Food Analytical Chemistry.* – 2002. – II.1.1–II.1.8.
24. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols / V. Katalinic [et al.] // *J. Food Chem.* – 2006. – Vol. 94, № 4. – P. 550–557.

25. Mullen, W. Evaluation of Phenolic Compounds in Commercial Fruit Juices and Fruit Drinks / W. Mullen, S.C. Marks, A. Crozier // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – Vol. 55, № 8. – P. 3148–3157.

26. Comparison of Antioxidant Potency of Commonly Consumed Polyphenol-Rich Beverages in the United States / N.P. Seeram [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2008. – Vol. 56, № 4. – P. 1415–1422.

27. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different *in vitro* Assays / N. Pellegrini [et al.] // *J. Nutr.* – 2003. – № 133. – P. 2812–2819.

28. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits / J.A. Vinson [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2001. – Vol. 49, № 11. – P. 5315–5321.

29. Колбас, Н.Ю. Характеристика антоцианового комплекса водно-этанольных экстрактов плодов некоторых представителей рода *Rubus* / Н.Ю. Колбас, В.Н. Решетников // *Вестн. Брэсцкага ўн-та, сер. 5. Хімія. Біялогія. Навукі аб зямлі.* – 2011. – № 2. – С. 40–47.

30. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler / J. Cheel [et al.] // *Food Chem.* – 2007. – Vol. 102, № 1. – P. 36–44.

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WATER-ETHANOL EXTRACTS OF FRUITS OF CERTAIN REPRESENTATIVES OF GENUS *RUBUS*

N.Y. Kolbas, V.N. Reshetnikov*

Brest State University named after A.S. Pushkin, Brest, Belarus

**Central Botanical Garden of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus*

ORAC, *ABTS* and *FRAP* methods were used to determine the antioxidant activity of the water-ethanol extracts of fruits blackberry (*Rubus fruticosus*, *Rubus caesius* and *Rubus nessensis*) and raspberry (*Rubus idaeus*). Total Phenolic Content and Total Anthocyanins Content in water-ethanol extracts of fruits were also determined. The total phenolic level by Folin-Ciocalteu assay highly correlated with the antioxidant activity. It was proposed to use the given extracts as biologically active additives of polyvalent action. *ORAC* and *ABTS* values were highly correlated with total anthocyanins content in extract. These methods can be used as standards in determining the antioxidant activity of other plants, having in its composition anthocyanins.