УДК 615.322:582.812.4
DOI: 10.34215/1609-1175-2021-3-40-44

Изучение химического состава плодов дальневосточных видов растений семейства вересковых (Ericaceae)

А.А. Саликова, С.Г. Пономарчук, Н.В. Плаксен

Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

Цель: анализ химического состава плодов дальневосточных видов растений семейства вересковых (Ericaceae). **Материал и методы.** Использованы свежие плоды и сок из плодов красники *(Vaccinium praestans)* и шикши черной *(Empetrum nigrum)*. Качественный состав органических кислот в плодах и в соке исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, количественное определение свободных органических кислот – методом алкалиметрии с помощью автоматического титратора, количественное определение фенольных кислот – методом прямой спектрофотометрии. **Результаты.** В соке из плодов *Empetrum nigrum* были идентифицированы яблочная, лимонная и винная кислоты, в соке из плодов *Vaccinium praestans*, помимо вышеперечисленных – обнаружена янтарная кислота. Сумма свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в соке красники составила 4,98±0,04 %, в соке шикши – 1,01±0,01 %. В плодах изучаемых растений также была определена галловая кислота. Количественное содержание фенольных кислот в спиртовых извлечениях плодов шикши черной и красники равнялось 3,59±0,09 и 2,43±0,06 %, соответственно. **Заключение.** Плоды *Vaccinium praestans* и *Empetrum nigrum* могут рассматриваться в качестве перспективного источника яблочной, лимонной, винной и галловой кислот.

Ключевые слова: *красника, Vaccinium praestans, шикша, Empetrum nigrum, органические кислоты*

Поступила в редакцию 26.03.2021. Получена после доработки 24.04.2021. Принята к печати 13.08.2021

Для цитирования: Саликова А.А., Пономарчук С.Г., Плаксен Н.В. Изучение химического состава плодов дальневосточных видов растений семейства вересковых (Ericaceae). *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2021;3:40–4. doi: 10.34215/1609-1175-2021-3-40-44

Для корреспонденции: Саликова Анастасия Александровна – ассистент кафедры фармации Тихоокеаского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, Океанский пр-т, 165); ORCID: 0000-0001-7732-4853; e-mail: a.salikova1992@bk.ru

Study of the chemical composition of fruits of far eastern plant species of the heather family (Ericaceae)

A.A. Salikova, S.G. Ponomarchuk, N.V. Plaksen

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Objective: The analysis of a chemical composition of fruits of far eastern species of plants of heather family (Ericaceae). **Methods:** Fresh fruit and juice of Kamchatka bilberry *(Vaccinium praestans)* and crowberry (Empetrum nigrum) were used. The composition of the organic acids in fruits and juice was studied using high performance liquid chromatography, quantifying free organic acids – alkalimetry method using automatic titrator, quantifying phenolic acids – direct spectrophotometry method. **Results:** Malic, citric and tartaric acids were identified in juice of *Empetrum nigrum* fruit. In addition to abovementioned acids, such acid as succinic was found in the juice of Vaccinium praestans fruit. The sum of free organic acids in terms of malic acid in Kamchatka bilberry juice was 4.98±0.04 %, in crowberry juice – 1.01±0.01 %. Gallic acid was also detected in the fruits of studied plants. The quantitative content of phenolic acids in alcohol extracts from Kamchatka bilberry and crowberry equaled 3.59±0.09 % and 2.43±0.06 %, respectively. **Conclusions:** *Vaccinium praestans* and *Empetrum nigrum* fruits can be considered as a perspective source of malic, citric, tartaric and gallic acids.

Keywords: *bilberry, Vaccinium praestans, crowberry, Empetrum nigrum, organic acids*

Received 26 March 2021; Revised 24 April 2021; Accepted 13 August 2021

For citation: Salikova AA, Ponomarchuk SG, Plaksen NV. Study of the chemical composition of fruits of far eastern plant species of the heather family (Ericaceae). *Pacific Medical Journal.* 2021;3:40–4. doi: 10.34215/1609-1175-2021-3-40-44

Corresponding author: Anastasiya A. Salikova, MD, assistant of the Department of Pharmacy, Pacific State Medical University (165 Okeansky Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID:0000-0001-7732-4853; e-mail: a.salikova1992@bk.ru

Дикорастущие на Дальнем Востоке растения-концентраторы биологически активных веществ стали объектом научного и практического интереса в силу разнообразия оказываемых ими фармакологических эффектов [1]. К одним из ярких представителей флоры Дальнего Востока относится семейство Вересковые (Ericaceae), к которому принадлежат брусника *(Vaccinium vitis-idaea)*, голубика *(Vaccinium uliginosum)*, черника *(Vaccinium myrtillus)*, красника *(Vaccinium praestans)* и шикша черная *(Empetrum nigrum)* [2]. Особый интерес у современных исследователей вызывают нефармакопейные растения этого семейства – красника или вакциниум превосходный [3] и шикша черная [4].

© *Саликова А.А., Пономарчук С.Г., Плаксен Н.В., 2021*

Вакциниум превосходный – многолетний стелющийся листопадный кустарничек. Листья крупные, жесткие, округлой формы, меняют свою окраску в течение всего сезона. Ягоды красники собраны в кисти по 5–6 сочных плодов шаровидной формы и покрыты глянцевой кожурой ярко-красного цвета [5]. Шикша черная – двудомный, вечнозеленый сильноветвистый кустарничек. Листовая пластинка свернута в трубку, заполненную беловатыми волосками. Плод – сочная костянка черного цвета, иногда неправильной формы [6]. Плоды вакциниума превосходного и шикши черной считаются природными источниками уникального набора биологически активных соединений: органических кислот, витаминов, флавоноидов, антоцианов, дубильных веществ и др. [7]. Органические кислоты способны увеличивать уровень водородного показателя внутренней среды человека, постепенно они ощелачивают организм и способствуют перистальтике кишечника, стимулируют выделение желудочного сока, замедляют рост гнилостных бактерий, значительно снижают интенсивность брожения в толстом кишечнике [8]. Гидрофильные полифенолы, которыми богаты эти плоды, относятся к естественным антиоксидантам, легко включаются в метаболические процессы, защищая организм от пагубного действия активных форм кислорода [9].

Комплексные исследования антиоксидантного эффекта плодов красники [3] и радиозащитного действия плодов шикши черной [10], проведенные на кафедре фармации ТГМУ, стали отправной точкой для изучения количественного и качественного состава органических кислот различной химической структуры. Цель настоящей работы – анализ химического состава плодов дальневосточных видов растений семейства вересковых (Ericaceae).

Материал и методы

Использованы свежие плоды и сок из плодов красники и шикши черной. Сырье заготовлено в период технической зрелости в Камчатском крае. Сок получали методом прямого отжима на ручном прессе. Изучение качественного состава органических кислот в соках из плодов объектов исследования проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) согласно ГОСТу 32771-2014 [11]. Условия хроматографии (по 20 мкл растворов образцов): высокоэффективный жидкостный хроматограф LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония); неподвижная фаза – металлическая колонка Shim-pack GIST C18 размером 4,6×250 мм, размер частиц 5 микрон, температура колонки 30 °C; подвижная фаза: 0,1М фосфатный буфер (pH 2,54); скорость подачи элюента 0,8 мл/мин., продолжительность анализа 30 мин., фиксация результатов с помощью ультрафиолетового детектора Shimadzu SPD-20AV при длине волны 210 нм. Для сравнения использовали растворы рабочих стандартных образцов органических кислот, которые готовили по методике, регламентированной ГОСТ 32771-2014 [11].

Сумму свободных органических кислот в соках из плодов красники и шикши определяли методом алкалиметрии с помощью автоматического титратора серии T50 (Mettler-Toledo GmbH, Швейцария), который непрерывно измеряет сигнал и самостоятельно определяет конечную точку титрования. В колбу вместимостью 100 мл прибавляли 1 мл сока, доводили водой до метки и перемешивали. Отбирали 10 мл полученного разведения, помещали в колбу вместимостью 300 мл, прибавляли 200 мл свежепрокипяченной воды, 1 мл 1 % спиртового раствора фенолфталеина, 2 мл 0,1 % раствора метиленового синего и титровали 0,1М раствором гидроксида натрия до регистрации прибором точки эквивалентности [12]. Сумму *(X)* органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в процентах вычисляли по формуле [12]:

$$X=\frac{V_T\times 0{,}0067\times 100\times 100\,\%}{V_a\times 10\times p},$$

где V_T – объем 0,1М раствора натрия гидроксида, пошедшего на титрование (мл), 0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1М раствора натрия гидроксида, V_a – объем сока (мл); p – плотность сока (г/дм^3).

Для определения наличия фенольных кислот в сырье брали по одному грамму (точная навеска) измельченных свежих плодов, прошедших сквозь отверстия сита диаметром 2 мм, помещали в колбу вместимостью 100 мл, приливали 30 мл экстрагента (50 % этиловой спирт), присоединяли колбу к обратному холодильнику и кипятили на водяной бане в течение 30 мин. с момента закипания. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр в колбы вместимостью 100 мл, добавляли 30 мл экстрагента (50 % этиловой спирт) и повторяли экстракцию дважды по данной методике. После охлаждения объем суммарного извлечения доводили 50 % этиловым спиртом до метки, 25 мл полученного раствора помещали в колбу вместимостью 100 мл и доводили до метки 50 % этиловым спиртом (исследуемые растворы) [13]. Для сравнения использовали 0,05 % спиртовой раствор галловой кислоты.

По 20 мкл растворов для исследования и раствора галловой кислоты хроматографировали на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы Shimadzu LC-20 Prominence (Япония), неподвижная фаза: металлическая колонка Shim-pack GIST C18 размером 4,6×250 мм, размер частиц 5 микрон; подвижная фаза: 85 % 0,01М фосфатного буфера (pH 3,05) и 15 % ацетонитрила; скорость подачи элюента 0,7 мл/мин., продолжительность анализа 30 мин., фиксация результатов с помощью ультрафиолетового детектора Shimadzu SPD-20AV при длине волны 254 нм.

Для количественного определения фенольных кислот плоды измельчали до размера частиц, проходящих

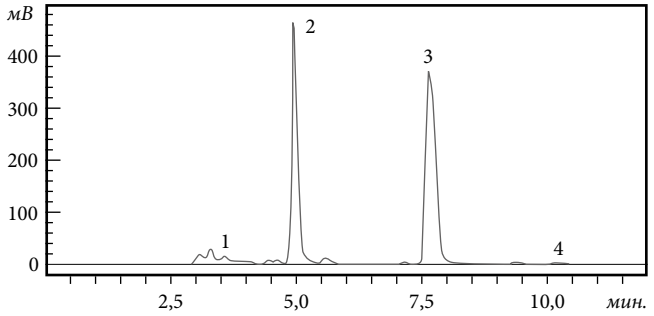

Рис. 1. Хроматограмма органических кислот сока из плодов *Vaccinium praestans*:

1 – винная кислота; 2 – яблочная кислота; 3 – лимонная кислота; 4 – янтарная кислота.

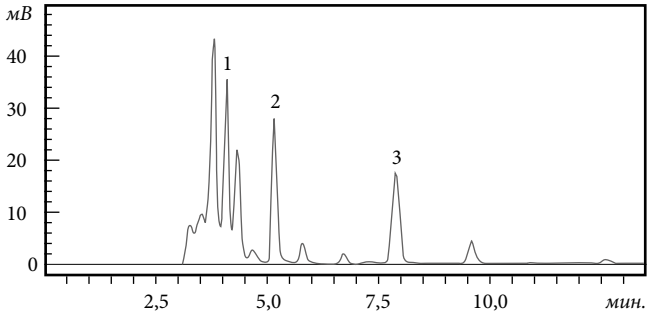

Рис. 2. Хроматограмма органических кислот сока из плодов *Empetrum nigrum*:

1 – винная кислота; 2 – яблочная кислота; 3 – лимонная кислота.

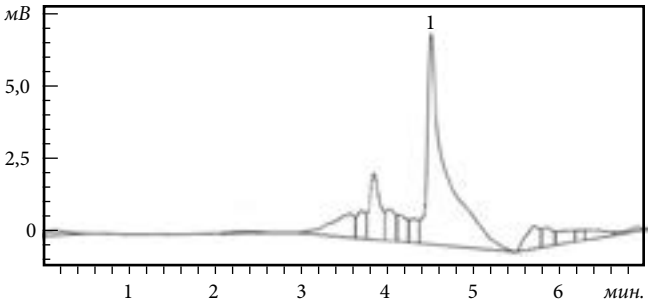

Рис. 3. Хроматограмма спиртовых извлечений из плодов *Vaccinium praestans* с пиком галловой кислоты (1).

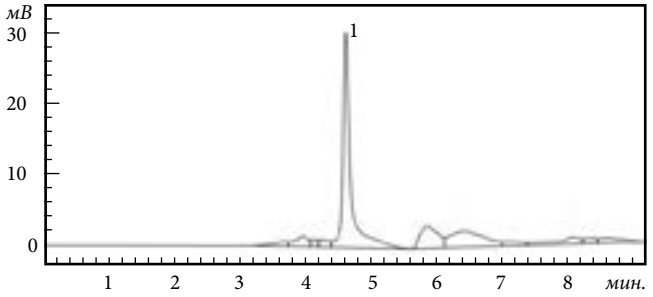

Рис. 4. Хроматограмма спиртовых извлечений из плодов *Empetrum nigrum* с пиком галловой кислоты (1).

сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Точные навески сырья (по одному грамму) помещали в колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл экстрагента (50 % этиловый спирт), присоединяли к обратному холодильнику и кипятили на водяной бане в течение часа с момента закипания смеси. После охлаждения полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 100 мл и доводили объем до метки тем же экстрагентом (раствор А). Этот раствор в объеме 5 мл помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл и 50 % этиловым спиртом доводили объем до метки (раствор Б) [14]. Для приготовления раствора стандартного образца галловой кислоты 0,05 г (точная навеска этой кислоты) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 50 % этилового спирта, тщательно перемешивали до растворения, доводили объем до метки тем же растворителем, 2 мл полученного раствора помещали в колбу вместимостью 100 мл и доводили до метки тем же растворителем [14]. Оптическую плотность полученных извлечений и раствора галловой кислоты измеряли на спектрофотометре UNICO 2800 UV/VIS (США) при длине волны 276 нм. Раствором сравнения был 50 % этиловый спирт. Содержание фенольных кислот *(X)* в пересчете на галловую кислоту вычисляли по формуле [14]:

$$X=\frac{D\times m_0\times 2\times 100\times 100}{D_0\times m\times 5\times(100-W)},$$

где D – оптическая плотность исследуемого раствора, D_0 – оптическая плотность раствора галловой кислоты, m – масса навески сырья в граммах, m_0 – масса навески галловой кислоты в граммах, W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Таблица 1

Результаты определения количественного содержания органических кислот в соках из плодов методом ВЭЖХ

Кислота	*Vaccinium praestans*		*Empetrum nigrum*	
	Время удерживания, мин.	Содержание в смеси, %	Время удерживания, мин.	Содержание в смеси, %
Винная	3,766	2,43	4,031	16,70
Яблочная	5,088	38,87	5,086	13,35
Лимонная	7,712	46,53	7,766	11,27
Янтарная	10,533	0,06	–	–

Результаты исследования подвергали статистической обработке согласно требованиям ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» Государственной фармакопеи РФ с использованием критерия Стьюдента *(t)* и с расчетом средних арифметических и доверительного интервала ($\bar{x}\pm\Delta x$), стандартного отклонения *(s)* и относительной ошибки методов количественного определения *(ε)* [15].

Результаты исследования

В соке из плодов изучаемых объектов методом ВЭЖХ были идентифицированы винная, яблочная, лимонная и янтарная кислоты (рис. 1, 2). Результаты качественного определения органических кислот в соках представлены в табл. 1.

Таблица 2

Результаты определения суммы свободных органических кислот в соке из плодов методом алкалиметрии

Сок из плодов	*n*	*f*	$\bar{x}$, %	*s*	s^2	*P*, %	*t (P, f)*	Δx	ε, %
Vaccinium praestans	5	4	4,98	0,036	0,0013	95	2,78	0,04	0,90
Empetrum nigrum	5	4	1,01	0,008	0,00006	95	2,78	0,01	0,97

Таблица 3

Результаты количественного определения фенольных кислот в свежих плодах методом алкалиметрии

Плоды	*n*	*f*	$\bar{x}$, %	*s*	s^2	*P*, %	*t (P, f)*	Δx	ε, %
Vaccinium praestans	5	4	2,43	0,05	0,0027	95	2,78	0,060	2,67
Empetrum nigrum	5	4	3,59	0,07	0,0051	95	2,78	0,088	2,46

Методом алкалиметрии была определена сумма свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту. Относительная ошибка метода с использованием автоматического титратора не превышала 1 % (табл. 2). Методом ВЭЖХ в плодах семейства Вересковые была обнаружена галловая кислота (рис. 3, 4).

Результаты количественного определения фенольных кислот в изучаемых плодах указаны в табл. 3.

Обсуждение полученных данных

Исследование состава органических кислот сока из плодов *Vaccinium praestans* и *Empetrum nigrum*, собранных в Камчатском крае, свидетельствует о присутствии яблочной, лимонной и винной кислот. Помимо вышеперечисленных, в соке из плодов красники была определена янтарная кислота. Также установлено наличие галловой кислоты в плодах шикши черной и красники. Идентифицированные органические и фенольные кислоты обладают разнообразными фармакологическими свойствами, что может быть основой суммарного фармакологического действия растений [7]. Так, например, лимонная и яблочная кислоты ускоряют метаболизм, винная и лимонная кислоты замедляют процессы гниения, янтарная кислота оказывает мощный антирадикальный эффект, галловая кислота имеет противомикробное, антиоксидантное и иммуномодулирующее свойства [8].

Визуальная регистрация точки эквивалентности при количественном определении свободных органических кислот титриметрическим методом имеет ряд весомых недостатков: высокая погрешность метода (3–7 %), затруднения в регистрации и др. Использование автоматического титратора, самостоятельно регистрирующего точку эквивалентности для определения суммы органических кислот, позволяет провести более точный анализ (относительная ошибка метода – менее 1 %), что было показано в настоящем эксперименте. Так, сок шикши черной значительно уступает соку красники в количественном содержании свободных органических кислот: 1,01±0,01 и 4,98±0,04 %, соответственно. Содержание фенольных соединений в плодах шикши – 3,59±0,09 %, а в плодах красники – 2,43±0,06 %.

Таким образом, плоды *Vaccinium praestans* и *Empetrum nigrum* могут рассматриваться в качестве перспективного источника яблочной, лимонной, винной и галловой кислот.

Конфликт интересов: *авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.*

Источник финансирования: *авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.*

Литература / References

1. Фролова Н.А., Резниченко И.Ю. Исследование химического состава плодово-ягодного сырья Дальневосточного региона как перспективного источника пищевых и биологически активных веществ. *Вопросы питания*. 2019;88(2):83–90. [Frolova NA, Reznichenko IYu. Investigation of the chemical composition of fruit and berry raw materials of the Far Eastern Region as a perspective source of nutrients and bioactive compounds. *Problems of Nutrition*. 2019;88(2):83–90 (In Russ).]
2. Нечаев А.А. Видовой состав, ресурсы и освоение дикорастущих ягодных растений российского Дальнего Востока. *Лесной вестник*. 2012;3:30–4. [Nechaev AA. Species composition, resources and development of wild berry plants of the Russian Far East. *Forestry Bulletin*. 2012;3:30–4 (In Russ).]
3. Плаксен Н.В., Степанов С.В., Устинова Л.В. Гепатопротекторное действие сиропа из плодов вакциниума превосходного. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2014;2:59–62. [Plaksen NV, Stepanov SV, Ustinova LV. Hepatoprotective effect of Vaccinium praestans syrup. *Pacific Medical Journal*. 2014;2:59–62 (In Russ).]
4. Плаксен Н.В., Устинова Л.В., Степанов С.В., Пономарчук С.Г., Парфенова Е.А. Коррекция экспериментального остеопороза соком и шротом плодов шикши черной. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2019;1:37–41. [Plaksen NV, Ustinova LV, Stepanov SV, Ponomarchuk SG, Parfenova EA. Correction of experimental osteoporosis with juice and oil meal of Empetrum nigrum fruits. *Pacific Medical Journal*. 2019;1:37–41 (In Russ).]
5. Чернягина О.А. Красника Vaccinium praestans на Камчатке. *Материалы XIII международной научной конференции «Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей»*. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс; 2012:124–8. [Chernyagina OA. Vaccinium praestans in Kamchatka. *Materials of XIII international scientific conference «Conservation of*

biodiversity of Kamchatka and coastal waters». Petropavlovsk-Kamchatsky: Kamchatpress; 2012:124–8 (In Russ).]
6. Андреева Н.В., Малогулова И.Ш. Виды шикши как перспективный источник БАВ в условиях Якутии. *Современные наукоемкие технологии.* 2013;9:51–2. [Andreeva NV, Malogulova ISh. Shiksha species as a prospective source of bas in the conditions of Yakutia. *Modern High Technologies.* 2013;9:51–2 (In Russ).]
7. Крышняя С.В., Красикова В.И. Химический состав плодов и листьев Vaccinium praestans. *Наземные экосистемы острова Сахалина: сб. трудов.* Южно-Сахалинск; 1999:121–8. [Kryshnyaya SV, Krasikova VI. Chemical composition of fruits and leaves of Vaccinium praestans. *Terrestrial Ecosystems of Sakhalin Island.* Yuzhno-Sarhalinsk; 1999:121–8 (In Russ).]
8. Стариченко А.В., Сердюченко И.В. Органические кислоты в нашей жизни. *Новая наука: современное состояние и пути развития.* 2017;1–2:7–10. [Starichenko AV., Serdyuchenko IV. Organic acids in our lives. *New Science: Current State and Ways of Development.* 2017;1–2:7–10 (In Russ).]
9. Коренская И.М., Миляева Е.А. Антиоксидантная активность плодов растений семейств Ericaceae и Caprifoliaceae. Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. *Создание новых физиологически активных веществ: мат. 6-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016».* Воронеж, 2016:320–2. [Korenskaya IM, Milyaeva EA. Antioxidant activity of fruits of plants of the Ericaceae and Caprifoliaceae families. *Ways and Forms of Improving Pharmaceutical Education. Creation of New Physiologically Active Substances.* Voronezh; 2016:320–2 (In Russ).]
10. Плаксен Н.В., Устинова Л.В., Степанов С.В., Степачева О.М., Пономарчук С.Г. Влияние природных средств на компенсаторные возможности организма при воздействии внешнего облучения в эксперименте. *Университетская наука – практическому здравоохранению.* Владивосток: Медицина ДВ, 2020. [Plaksen NV, Ustinova LV, Stepanov SV, Stepacheva OM, Ponomarchuk SG. The influence of natural remedies on the compensatory possibilities of the organism under the exposure of external iradiation in experiment. *University Science – Practical Health Care.* Vladivostok: Medicina DV; 2020 (In Russ).]
11. ГОСТ 32771-2014. *Продукция соковая. Определение органических кислот методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.* 2014. [GOST 32771-2014. *Produktsiya sokovaya. Opredelenie organicheskikh kislot metodom obrashchenno-fazovoi vysokoehffektivnoi zhidkostnoi khromatografii.* 2014 (In Russ).].
12. Степанов С.В., Саввина А.Л. Получение и стандартизация сиропа плодов калины Саржента. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2010;2:102–4. [Stepanov SV, Savvina AL. Derivation and standardization of Sargenta arrow-wood fruit syrup. *Pacific Medical Journal.* 2010;2:102–4 (In Russ).]
13. Червонная Н.М., Андреева О.А. Об антиоксидантной активности спирто-водных извлечений из цветков бархатцев распростертых. *Современные проблемы науки и образования.* 2015;2–3:239. [Chervonnaya NM, Andreeva OA. About antioxidant activity of the alcohol-water extracts from the flowers Tagetes patula. *Modern Problems of Science and Education.* 2015;2–3:239 (In Russ).]
14. Гаврилин М.В., Попова О.И., Губанова Е.А. Фенольные соединения надземной части шалфея мускатного (Salvia sclarea L.), культивируемого в Ставропольском крае. *Химия растительного сырья.* 2010;4:99–104. [Gavrilin MV, Popova OI, Gubanova EA. Phenolic compounds of the aerial part of clary sage (Salvia sclarea L.) cultivated in the Stavropol Territory. *Chemistry of Plant Raw Materials.* 2010;4:99–104 (In Russ).]
15. *Государственная фармакопея Российской Федерации,* XIV издание. [*Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii,* XIV izdaniye (In Russ).] URL: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (Accessed 3 March 2021).