

УДК 543.54:547.973

ПЛОДЫ ЖИМОЛОСТИ СИНЕПЛОДНОЙ КАК ИСТОЧНИК АНТОЦИАНОВ

© А.Н. Чулков, Д.А. Гостищев, Л.А. Дейнека, В.И. Дейнека*, Д.И. Писарев, В.Н. Сорокопудов, С.А. Сазонов

Белгородский государственный университет, ул. Победы, 85, Белгород, 308015 (Россия) e-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе исследован антоциановый состав плодов более 20 различных сортов *Lonicera edulis* Turcz. ex Freyn., выращенных в условиях Белгородской области. Установлено, что уровень накопления антоцианов для различных сортов неодинаков и составляет 188–445 мг на 100 г свежих плодов. Но при этом во всех исследованных образцах основным антоцианом был один и тот же компонент – цианидин-3-глюкозид с долей не ниже 74%. Поэтому плоды жимолости могут рассматриваться как ценное сырье для получения природного колоранта для пищевой и медицинской промышленности, для чего в работе впервые приводится описание метода очистки антоцианов с использованием известных марок природных глин «Смекта» и «Неосмектин».

Ключевые слова: антоцианы, плоды, *Lonicera edulis* Turcz. ex Freyn., очистка, глины, Смекта, Неосмектин.

Введение

Жимолость съедобная (*Lonicera edulis* Turcz. ex Freyn.) — собирательный термин, включающий несколько синеплодных видов рода жимолость: камчатская (*L. kamtschatica* (Sevast.) Pojark), съедобная (*L. edulis* Turcz. ex Freyn.), Турчанинова (*L. turczaninowii* Pojark.), Регеля (*L. regeliana* Boczkar), алтайская (*L. altaica* Pall.), Палласа (*L. pallasii* Ledeb.) [1, 2]. Преимуществом этого растения является раннее созревание плодов (за несколько недель до земляники); при этом сами растения рано вступают в плодоношение, а спелые плоды легко отделяются от растения. Ягоды используют как в свежем виде, так и для приготовления соков, джемов, вин и пр. Плоды жимолости накапливают различные биологически активные вещества, проявляют противовоспалительную и антибактериальную активность [1–4]. Темно-синяя окраска плодов обусловлена накоплением антоцианов, внимание к которым привлечено благодаря широкому спектру биологической активности этих соединений [5]. Содержание антоцианов в некоторых сортах жимолостей достигает до 400–450 мг / 100 г ягод [6], благодаря чему жимолость можно отнести к богатым источникам этих соединений и перспективным материалам для выделения антоциановых пигментов – колорантов для пищевой и медицинской промышленности.

Данная работа посвящена изучению накопления антоцианов в плодах жимолости в условиях Белгорода и разработке метода выделения и экстракции антоцианов из этого материала.

Экспериментальная часть

Ягоды различных сортов и видов жимолости съедобной были выращены в ботаническом саду Белгородского государственного университета в сезоне 2010 г. Экстракцию антоцианов из ягод проводили 0,1 М раствором соляной кислоты. Для количественного определения антоцианов использовали спектрофотометрический метод с пересчетом на цианидин-3-глюкозид, а видовой состав антоцианов контролировали методом ВЭЖХ [7]. Масс-спектры экстрактов записывали на приборе Bruker Daltonics, в качестве матрицы использовали кумаровую кислоту.

Обсуждение результатов

Уровень накопления антоцианов в исследованных образцах жимолостей, выращенных в условиях Белгородской области, заметно различается: от 130 до 450 мг на 100 г свежих плодов (табл. 1).

Отметим, что для анализа в данной работе использовали типичные для каждого растения по размеру и окраске плоды, отбрасывая недостаточно развитые плоды, поскольку уровень накопления антоцианов в них зависит от сроков от начала созревания до сбора [3]. Но при таком большом различии в суммарном накоплении качественный состав антоцианового комплекса довольно постоянен (табл. 2).

* Автор, с которым следует вести переписку.

Таблица 1. Содержание антоцианов в различных сортах жимолостей

Название сорта	Содержание*	Название сорта	Содержание*
Провинциалка	321±31	Камчатская №4	263±19
Голубое веретено	219±25	Камчатская № 8	304±28
Золушка	292±24	ЭЛС №82	225±21
Морена	293±23	Минуса №1	340±28
Изюмная	188±22	Минуса №2	195±15
Томичка	184±21	Камчадалка	225±26
Ленита	250±24	Алтайская №1	450±29
Лазурит	241±24	Алтайская №2	364±21
Черничка	131±20	Алтайская №3	285±25
Длинноплодная	242±25	Алтайская №4	336±24
Синяя птица	410±27	Алтайская №5	310±22
Камчатская №3	287±29	Алтайская №6	242±20

* мг / на 100 г свежих плодов.

Таблица 2. Содержание антоцианов в различных сортах жимолостей, моль %*

Название сорта	Cy-3,5-dGly	Cy-3-Gly	Cy-3-Rut	Pg-3-Glu	Pn-3-Glu
Провинциалка	3,9	80,1	2,2	4,1	9,5
Голубое веретено	4,0	79,9	2,6	2,0	11,3
Морена	4,1	77,2	3,3	4,1	11,1
Изюмная	3,7	91,1	1,6	1,3	2,1
Томичка	4,2	86,5	1,1	3,3	4,6
Лазурит	4,3	80,0	1,5	5,1	8,9
Черничка	2,6	88,2	1,3	3,1	4,6
Длинноплодная	8,5	75,3	3,5	4,7	7,8
Синяя птица	1,7	86,0	5,7	2,2	4,1
	4,3	82,3	5,4	2,2	4,0
	4,1	75,4	6,2	2,1	3,2
Камчатская № 1	12,3	74,4	3,3	1,1	3,9
Камчатская № 2	11,2	79,5	1,3	6,6	1,1
Камчатская № 6	9,7	74,1	7,5	1,2	2,6
Минуса №1	5,4	82,4	7,6	1,9	1,1
Камчадалка	4,5	80,1	5,6	1,9	7,6
Алтайская № 1	6,0	79,9	3,2	1,8	8,9

* Расчет по площадям пиков на хроматограмме. В таблице не указаны вещества с массовой долей меньше 1%.

На хроматограммах экстрактов жимолости (для всех исследованных образцов) обнаруживается один основной компонент – цианидин-3-глюкозид (Cy-3-Glu) (рис. 1), доля которого в сумме антоцианов по площадям пиков в ряде случаев превышала 85%. Заметно меньше содержание цианидин-3-рутинозида (Cy-3-Rut) и аналогичных производных пеларгонидина (Pg-3-Glu) и пеонидина (Pn-3-Glu и Pn-3-Rut); обнаруживаются также цианидин-3,5-диглюкозид (Cy-3,5-diGlu) и некоторые неидентифицированные минорные компоненты. Это принципиально соответствует литературным данным: в работе польских исследователей [1], были обнаружены Cy-3-Glu, Cy-3-Rut, Cy-3,5-diGlu и Pn-3-Rut; а в работе исследователей из США [8] к этому списку добавились Pg-3-Glu и Pn-3-Rut. Для идентификации соединений в настоящей работе применяли сопоставление времен удерживания компонентов экстракта с удерживанием основных антоцианов плодов черной смородины (Cy-3-Glu и Cy-3-Rut [9]), лепестков розы (Cy-3,5-diGlu, [10]).

Для подтверждения выполненного отнесения мы использовали матрично-активированную лазерную масс-спектрометрию (MALDI). Однако этот метод оказался не очень информативным, поскольку при испарении-ионизации антоцианы большей частью теряют углеводный остаток, детектируясь главным образом в виде ионов агликонов. На спектре (рис. 2), основной сигнал соответствует катиону цианидина ($m/z = 287,311$), а интенсивность основного компонента экстракта (Cy-3-Glu с $m/z = 449,31$) существенно ниже, что ограничивает применимость метода, поскольку он применим только к индивидуальным компонентам (позволяет дифференцировать антоцианы только по основам – антоцианидинам), при этом контроль гликозидного состава не отличается надежностью, вследствие чего главным методом идентификации может считаться только метод ВЭЖХ, чувствительный к любым структурным перестройкам в антоцианах. Кстати, 3,5-дигликозиды всех антоцианидинов характеризуются пиками (на хроматограммах) с заметно меньшей эффективностью по сравнению с 3-гликозидами, причем, по нашим наблюдениям, в случае антоцианидин-3-гликозидов нет принципиальных различий между уширением пиков для моно-, ди- и даже тригликозидов.

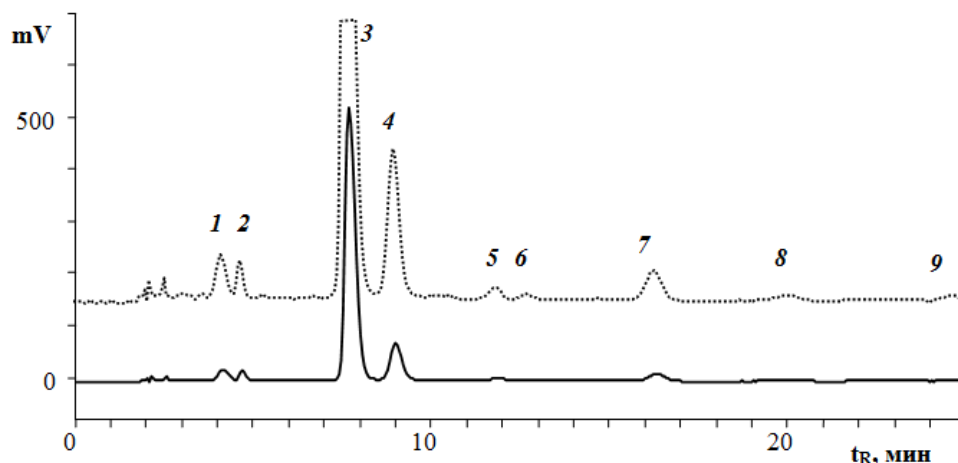


Рис. 1. Разделение антоцианов плодов жимолости «Алтайской». Колонка: 250×4 мм Reprosil-Pur 5C18AQ; подвижная фаза: 10 об.% HCOOH и 11 об.% CH₃CN в воде; 510 нм. 1 – Cy-3,5-diGlu, 3 – Cy-3-Glu, 4 – Cy-3-Rut, 5 – Pg-3-Glu, 7 – Pn-3-Glu, 8 – Pn-3-Rut; 2, 6 и 9 – не идентифицированы

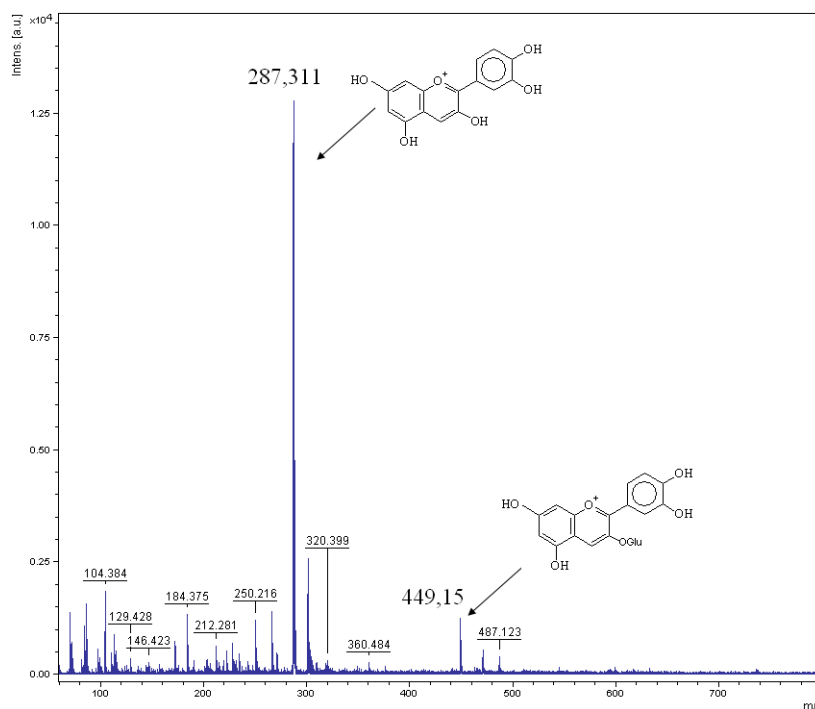


Рис. 2. MALDI масс-спектр экстракта антоцианов плодов жимолости «Алтайская»

Анализируя полученные в настоящей работе и литературные данные, можно сделать вывод о постоянстве качественного состава антоцианов синеплодных видов и сортов жимолости, которые (подобно антоцианам плодов черной смородины [9]) поэтому могут рассматриваться как источники вещества – «свидетеля» – цианидина-3-глюкозида для идентификации антоцианов в сложных смесях. Это важно, во-первых, вследствие труднодоступности очищенных кристаллических антоцианов и, во-вторых, вследствие хорошей сохранности (по нашим данным) антоцианов в сушеных плодах жимолости съедобной, т.е. экстракт может быть приготовлен из исходного материала непосредственно перед использованием – после экстракции и очистки, например, через сорбцию на патронах ДИАПАК С18.

В экстракт, получаемый непосредственно из плодов, кроме антоцианов попадают и другие сопутствующие вещества, которые могут приводить к нежелательным явлениям, например, к выпадению осадка и т.д. По этой причине очистка антоцианов является важным технологическим этапом на пути получения природных колорантов, этапом, для которого эффективными сорбентами оказываются слоистые минералы – монтмориллонитовые глины [11].

В настоящей работе мы исследовали эффективность очистки антоцианов экстракта плодов жимолости с использованием широко известных глин, предлагаемых в качестве эффективных энтеросорбентов –

«Смекта» (Франция) и ее отечественного заменителя «Неосмектин» («Фармпроект», Россия). Образцы материалов, приобретенные в аптеке, перед сорбцией антоцианов кондиционировали в нескольких порциях 0,1 М водного раствора HCl, отмывали дистиллированной водой и высушивали при 110 °С.

Экстракт плодов жимолости получали настаиванием плодов в 0,1 М водном растворе HCl. Экстракт отделяли от остатка фильтрованием через бумажный фильтр. В работе использовали экстракт, содержащий по спектрофотометрическим данным 1,1 ммоль/л антоцианов. Сорбцию антоцианов выполняли статическим методом, встряхивая навеску подготовленной глины и порцию экстракта на орбитальном шейкере LOIP LS-220 в течение 30 мин. Экстракт отделяли от сорбента центрифугированием.

При соотношении экстракт – сорбент, равном 50 : 1, сорбционная емкость «Неосметина» оказалась примерно вдвое больше, чем «Смекты» (57,5±2,5 против 25,5±2,0 мкмоль/г, соответственно), свидетельствуя о большей сорбционной эффективности отечественного сорбента.

Для десорбции антоцианов с глин использовали 1% раствор концентрированной HCl в медицинском этаноле. Эффективность использованной очистки определяли по массовой доле Су-3-Glu в сухом остатке до и после экстракции. Если исходный экстракт характеризовался очень высоким содержанием сопутствующих веществ – массовая доля Су-3-Glu составила лишь 1,6% (на сухое вещество), то при очистке с использованием «Неосмектина» удается повысить эту характеристику до 22%, в то время, как в случае «Смекты» этот показатель несколько хуже – 5,9%.

Выводы

Исследован антоциановый состав более 20 различных сортов жимолостей, выращенных в условиях Белгородской области. Уровень накопления антоцианов в исследованных образцах изменяется от 130 до 450 мг на 100 г свежих плодов.

Установлен качественный состав экстрактов жимолости. Основной компонент всех образцов – цианидин-3-глюкозид (Су-3-Glu), доля которого во всех образцах превышала 74%. Заметно меньше содержание цианидин-3-рутинозида (Су-3-Rut), пеларгонидина (Pg-3-Glu), пеонидина (Pn-3-Glu и Pn-3-Rut), цианидин-3,5-диглюкозид (Су-3,5-diGlu).

Найден эффективный способ очистки антоцианов экстракта плодов жимолости с использованием энтеросорбентов – «Смекта» (Франция) и ее отечественного заменителя «Неосмектин» («Фармпроект», Россия). При соотношении экстракт – сорбент, равном 50 : 1, сорбционная емкость «Неосметина» оказалась примерно вдвое больше, чем «Смекты» (57,5±2,5 против 25,5±2,0 мкмоль/г соответственно).

Список литературы

1. Ochmian I., Grajkowski J., Skupien K. Yield and Chemical Composition of Blue Honeysuckle Fruit Depending on Ripening Time // *Bulletin UASVM Horticult.* 2010. V. 67. Pp. 138–147.
2. Чепелева Г.Г., Тимошин А.В. Потребительские и физико-химические характеристики различных видов жимолости // *Химия растительного сырья.* 2007. №4. С. 125–126.
3. Skupien K., Ochmian I., Grajkowski J. Influence of ripening time on fruit chemical composition of two blue honeysuckle cultivars // *J. Fruit Ornament. Plant Res.* 2009. V. 17. Pp. 101–111.
4. Евтухова О.М., Теплюк Н.Ю., Леонтьев В.М., Иванова Г.В. Содержание биологически активных соединений в плодах калины и жимолости, произрастающих в Красноярском крае // *Химия растительного сырья.* 2000. №1. С. 77–79.
5. Lila M.A. Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach // *J. Biomed. Biotechnol.* 2004. V. 5. P. 306–313.
6. Гришаков А.Н., Жданова Е.А., Семкина Л.А., Мамаев С.А., Краснов В.А. Определение 3-цианидинглюкозида в плодах жимолостей методом ВЭЖХ // *Химия и технология растительных веществ : тез. Всерос. конф. Сыктывкар,* 2000. 312 с.
7. Сорокопудов В.Н., Хлебников В.А., Дейнека В.И. Антоцианы некоторых растений семейства *Berberidaceae* // *Химия растительного сырья.* 2005. №4. С. 57–60.
8. Chaovanalikit A., Thompson M.M., Wrolstad R.E. Characterization and quantification of anthocyanins and polyphenolics in blue honeysuckle (*Lonicera caerulea L.*) // *J. Agric. Food Chem.* 2004. V. 52. Pp. 848–852.
9. Дейнека Л.А., Шапошник Е.И., Гостищев Д.А., Дейнека В.И., Сорокопудов В.Н., Селеменов В.Ф. ВЭЖХ в контроле антоцианового состава плодов черной смородины // *Сорбц. хром. процесс.* 2009. Т. 9, вып. 4. С. 529–536.
10. Harborne J.V. The anthocyanins of roses. Occurrence of peonin // *Cell. Molec. Life Sci.* 1961. V. 17, N2. Pp. 72–73.
11. Дейнека Л.А., Чулков А.Н., Дейнека В.И. Сорбция антоцианов природными глинами: зависимость от строения антоцианов и состава экстрактов // *Журнал прикладной химии.* 2009. №5. С. 742–748.

Поступило в редакцию 17 октября 2010 г.