

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРОТИНОИДНОГО СОСТАВА МЯКОТИ ТЫКВ

Л.А. Дейнека
И.А. Гостищев
В.И. Дейнека
М.Ю. Третьяков
А.А. Сиротин

*Белгородский государственный
национальный
исследовательский
университет*

*Россия, 308015 Белгород,
ул. Победы, 85*

E-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе исследованы каротиноидные комплексы некоторых сортов выращиваемых в России тыкв. Установлено, что в некоторых из них доминирующими являются α - и β -каротины (они могут быть использованы для предотвращения авитаминоза – по витамину А), а в других велика доля лютеина, поэтому последние тыквы могут быть рекомендованы для употребления с целью профилактики возрастной макулярной дегенерации. При этом тип синтезируемых в плодах каротиноидов не определен однозначно видовыми различиями растений.

Ключевые слова: *Cucurbita*, тыква, каротины, лютеин. ВЭЖХ

Введение

Тыква (*Cucurbita*) – род одно- и многолетних растений семейства тыквенные, который насчитывает около 20 видов, дико произрастающих исключительно в Америке [1]. Родиной тыкв является тропическая или субтропическая Америка; упоминание о ней в Европе появились через некоторое время после завершения экспедиции Колумба [2]. Тыквами называют специфической формы плоды четырех видов растений рода *Cucurbita* (*C. pepo*, *C. mixta*, *C. maxima* и *C. moschata*), из которых в России культивируют растения трех видов:

- тыквы крупноплодной (*C. maxima*) с шаровидными белыми или серыми плодами с желтой или оранжевой мякотью, весом до 40-50 кг;
- тыквы обыкновенной или твердокорковой (*C. pepo*) со стеблями и листьями, покрытыми шипами, с плодами овально-цилиндрической формы, с гладкой желто-оранжевой поверхностью, иногда с желто-зеленым рисунком;
- тыквы мускатной (*C. moschata*), с изысканным вкусом, с плодами разнообразной формы, чаще вытянутой, иногда булавообразной с перехватом, розовато-коричневых или желтых оттенков, с оранжевой мякотью и мягкой корой.

Многообразие форм плодов тыкв стало причиной появления нескольких различных названий, например, для обозначения съедобных плодов *C. pepo* в английском языке используют восемь названий, тогда как для русского языка используют только три – тыква, патиссон и кабачок.

Три перечисленные выше вида растений являются не только важнейшими пищевыми культурами, но и источниками фармакологически активных веществ [3], в том числе и каротиноидов во всем мире. Вначале тыквы рассматривались как источники провитамина А (β -каротин), затем было обнаружено, что в некоторых тыквах может синтезироваться другой, необходимый здоровью каротиноид – лютеин [4]. Большое число сортов тыкв различных видов, культивируемых во всем мире, имеет как следствие различный каротиноидный состав и, поэтому, различное лечебно-профилактическое назначение. Соответственно определение типа каротиноидного комплекса плодов тыквы представляется важным при выборе посевного материала и выборе образцов для целей селекции. Сопоставление каротиноидных комплексов некоторых сортов тыкв, выращиваемых в Бразилии, позволило установить, что для *C. moschata* типично накопление β - и α -каротинов, тогда как в плодах *C. pepo* и *C. maxima* доминируют β -каротин и лютеин [4]. Работ по изучению видового состава каротиноидов тыкв отечественных сортов в литературе нами не обнаружено, что и стало задачей настоящего исследования.

Материалы и методы исследования

В работе использованы две хроматографические системы, первая из которых составлена из насоса Altex 110A, крана дозатора Rheodyne 7200 с петлей объемом 20



мкл; детектор – спектрофотометрический с варьируемой длиной волны (Nicolet LC/9563). А вторая система – Agilent Technologies для UPLC с диодно-матричным детектором. Хроматографические колонки: 4.6×250 мм Kromasil-100 5C18 и 2×125 мм, Zorbax 3C18. Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП МультиХром 1.5 и ChemStation32.

Пробоподготовку проводили обычными методами [5].

Результаты исследования и обсуждение

Одним из лучших методов определения качественного (и количественного) состава каротиноидных комплексов является ВЭЖХ. К настоящему времени число работ по использованию этого метода при определении каротиноидов очень велико (8652 ссылки на сайте SCIRUS на комбинацию слов carotenoids and HPLC в научных журналах), однако практически все работы являются изолированными в хроматографическом отношении исследованиями. Так, хорошо известно, что замена β -иононового кольца на α -иононовое (см. схему) приводит к некоторому увеличению липофильности – и к росту удерживания в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ.

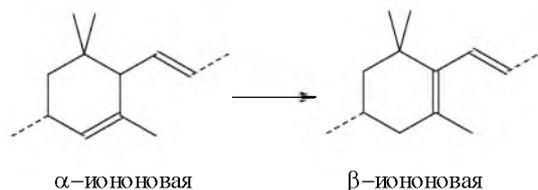


Схема. Структуры концевых фрагментов

Этого небольшого структурного различия достаточно для разделения α - и β -каротинов, лютеина и зеаксантина и т.д. в условиях обращенно-фазовой хроматографии. Но для надежного разделения соответствующих изомеров требуются элюенты с относительно большим удерживанием этих соединений. Так, в элюенте, содержащем 15 об.% ацетонитрила в ацетоне, удается установить, что каротиноиды очень популярной в нашем регионе тыквы мускатной с характерной вытянутой формой с ярко оранжевой мякотью действительно (см. [4]) состоят в основном из смеси α - и β -каротинов (рис. 1), что подтверждается спектральными параметрами пиков, записанных с использованием диодно-матричного детектора (рис. 2.)

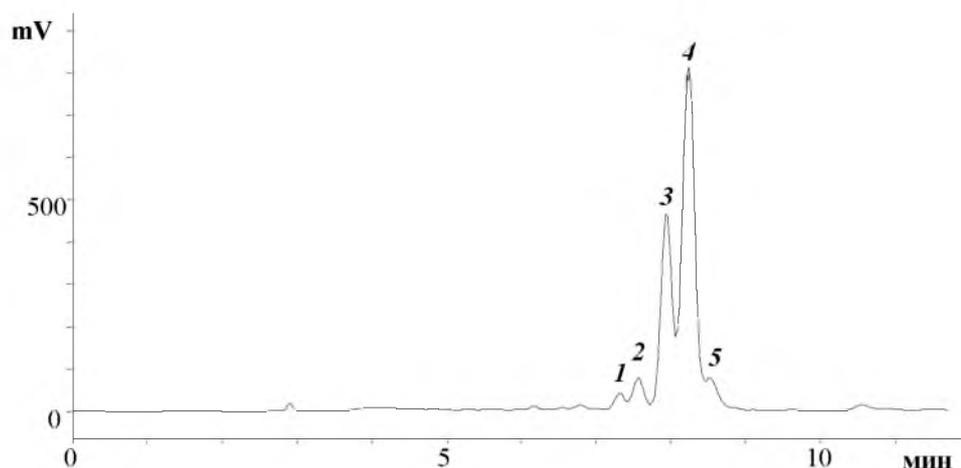


Рис. 1. Разделение каротиноидов мякоти тыквы мускатной

Колонка 250×4.6 мм Kromasil-110 5C18; подвижная фаза 10% ацетонитрила в ацетоне 1 мл/мин. 450 нм. Отнесение пиков – в тексте.

Спектральное подтверждение правильности отнесения пиков основано на том, что при замене концевых структур по схеме возрастает цепь сопряжения, но не на одну двойную связь, а несколько меньше, поскольку сопряжение двойной связи β -

иононового фрагмента с полиеновой центральной частью нарушено их некомпланарностью [5]. Следствие некомпланарности – изменение длин волн максимумов однотипных резонансных переходов между основным колебательным состоянием основного электронного состояния и соответствующими колебательными состояниями первого возбужденного электронного состояния составляет величину порядка 5 нм, рис. 2.

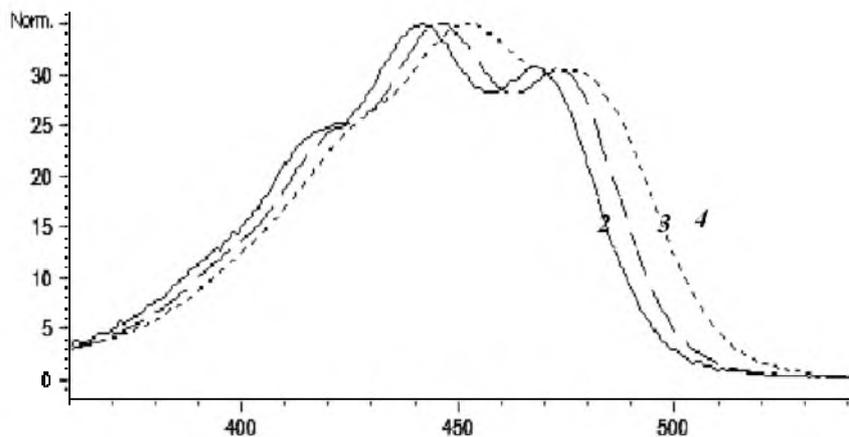


Рис. 2. Спектры каротинов
Номера на спектрах соответствуют номерам пиков на хроматограмме на рисунке 1

Интересен тот факт, что в природных объектах могут накапливаться β -каротин, или смесь α - и β -каротинов, в то время как нам не известны источники ε -каротина, по крайней мере на этот изомер внимания не обращают. Действительно, если составить модель независимой активности α - и β -циклаз лютеина, то при соотношении между долями α -каротина (пик № 3 на рис. 1) и β -каротинов (пик № 4 на рис. 1) порядка 1:2 доля ε -каротина в смеси должна быть менее 5%. Такой пик присутствует на хроматограмме (№ 2, рис. 1) – и по соотношению площадей и по практически одинаковому последовательному изменению факторов удерживания, и по одинаковому последовательному гипсохромному смещению максимумов полос в спектрах (рис. 2). Пики № 1 и № 5 на рис. 1, скорее всего, относятся к *цис*-изомерам каротинов.

Недостатком изократического элюирования является то, что в условиях, при которых разделяются изомеры каротина, удерживание эфиров ксантофиллов оказывается довольно большим и эти пики трудно надежно идентифицировать: при большой полуширине пиков высота пиков может быть сопоставимой с шумом. Задача детектирования эфиров ксантофиллов может быть решена увеличением элюирующей силы подвижной фазы (рис. 3). На хроматограмме каротиноидного комплекса тыквы мускатной сорта «Витаминная» очевидно преобладание смеси двух каротинов (не разделяющихся в данных условиях), которые дополняют более липофильные эфиры ксантофиллов (с долей немногим более 30%). Отнесение этих эфиров было выполнено сопоставлением спектров и времен удерживания с хроматограммой экстракта цветков бархатцев [1]: основными являются пики дикаприната (время удерживания 3.671 мин), каприната-лаурата (4.131 мин), дилаурата (4.684 мин), лаурата-миристата и димиристата лютеина. Подобный комплекс обнаружен и для двух других сортов тыквы мускатной («Жемчужная» и «А ну-ка отними»). Следовательно, для отечественных сортов мускатной тыквы характерно накопление не только α - и β -каротинов (на что указывает заметно уширенный соответствующий пик (рис. 3), и нетождественность спектра внутренней и внешней стороны пика), но и диэфиров лютеина при минимальном вкладе неэтерифицированного лютеина.

Однако количественная оценка накопления лютеина в этом случае (ОФ ВЭЖХ) затруднена вследствие близости его времени удерживания к «мертвому» времени хроматографической системы. Обычный вариант решения этой проблемы – использование градиентного режима, – оправдан только при использовании большого числа стандартных веществ. Альтернатива методу – использование нормально-фазовой ВЭЖХ. При этом в районе «мертвого» времени элюируются каротины (пик №1), но на



хроматограмме разделяются пики неэтерифицированных лютеина и зеаксантина (пики № 4 и № 5, рис. 4).

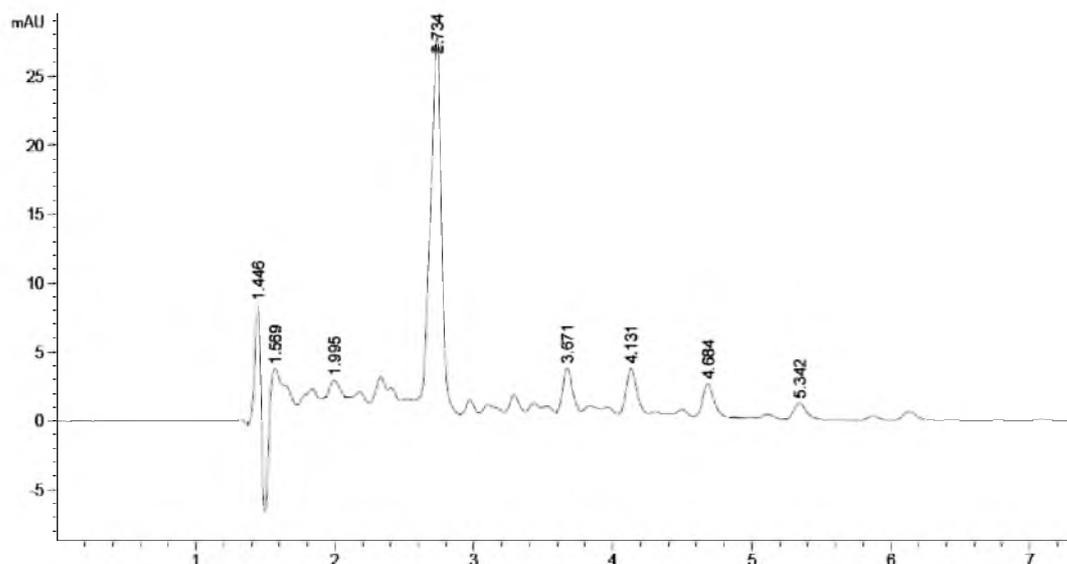


Рис. 3. Разделение каротиноидов мякоти плодов тыквы мускантой, сорт «Витаминная» Колонка 150×2 мм Zorbax 3С18; подвижная фаза 10% ацетонитрила в ацетоне, 0.25 мл/мин. 450 нм. Отнесение пиков – в тексте.

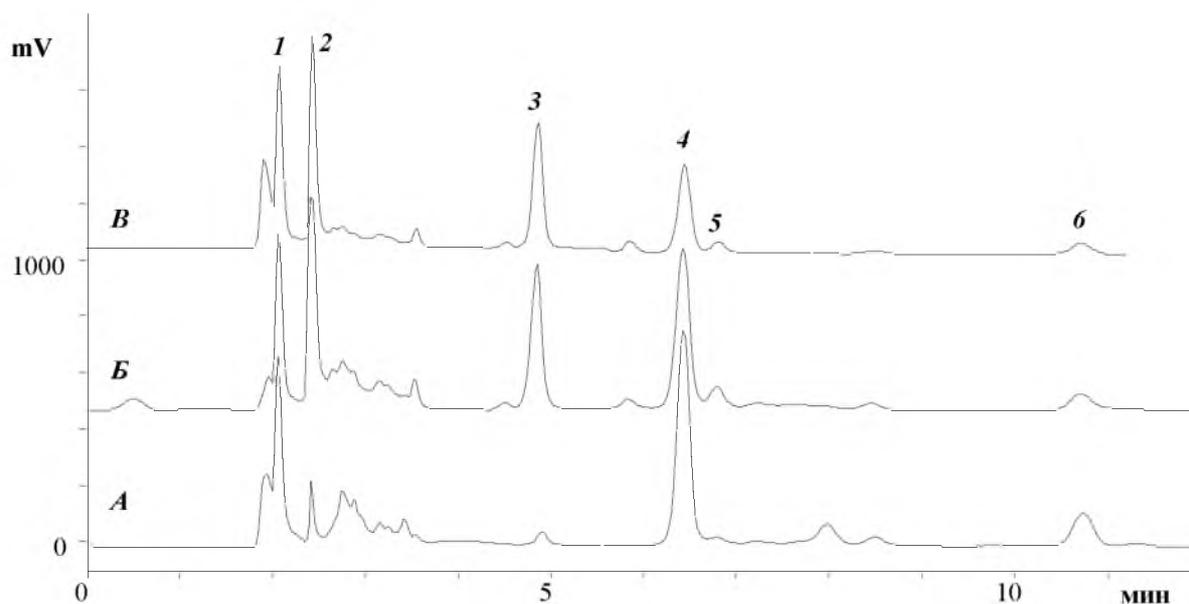


Рис. 4. Разделение каротиноидов мякоти плодов тыквы в условиях нормально-фазовой ВЭЖХ Колонка 250×4.6 мм Силасорб 300, 7 мкм; подвижная фаза 30% ацетона в *n*-гексане, 1 мл/мин. 450 нм. А – патиссон, Б – тыква крупноплодная, В – тыква декоративная. Отнесение пиков – в тексте

Эфиры ксантофиллов (пик № 2) и неизвестные вещества, скорее всего относящиеся к эпокси-соединениям (пики № 3, № 6 и др.) дополняют каротиноидный комплекс тыкв, относящихся к *C. pepo*. При этом лютеин является главным компонентом кожуры патиссона с необычной желтой окраской, он же вместе с диэфиром превалируют в мякоти тыквы крупноплодной (сорт неизвестен) и в декоративной тыкве. Таким образом, выводы работы [4] в целом согласуются с представленными для отечественных сортов тыкв данными.

Однако полного соответствия между каротиноидными комплексами отечественных и зарубежных сортов трудно ожидать вследствие легкой гибридизации между тремя основными видами тыквы. В этом отношении нами были исследованы четыре сорта тыкв, три из которых отнесены производителями семян к *C. moscata* («Чудо-юдо», «Жемчужина» и «Красавица»), и еще один сорт («Пастила-Шампань»), упоминания о виде этой тыквы нами не обнаружено. При этом среди мускатных тыкв две имели плоды с характерной вытянутой булавообразной формой, а плоды третьей («Красавица») имели слабо сегментированную плоскоокруглую форму. Плоды сорта «Пастила Шампань» - вытянутый эллипс розового цвета.

Мякоть и кожура тыквы сорта «Красавица» имели близкий каротиноидный состав лютеинового типа: на долю неэтерифицированного лютеина приходилось около 45% от общей площади пиков каротиноидов, доля суммы каротинов была заметно меньше – около 20%. Остальные пики относились к эпокси-производным, что подтверждается превращением желтого пятна каротиноидов на ТСХ-пластинах в зеленое в парах *HCl*. Каротиноидный состав мякоти и кожуры тыквы сорта «Пастила-Шампань», также были близкими и относились к тому же типу, что и каротиноиды сорта «Красавица». Для сортов «Жемчужина» и «Чудо-юдо» в экстрактах была обнаружена только смесь α - и β -каротинов.

Для дифференциации сортов тыкв по каротиноидному составу в данном случае было достаточно и сопоставления спектров экстрактов: во-первых, большая доля β -каротина для каротиновых сортов приводит к заметному батохромному сдвигу спектра по сравнению с экстрактом лютеинового типа; во-вторых, вследствие уширения пиков резонансных сигналов каждого компонента электронно-колебательной структуры приводит к снижению «впадины» между максимумами двух первых переходов (рис. 5).

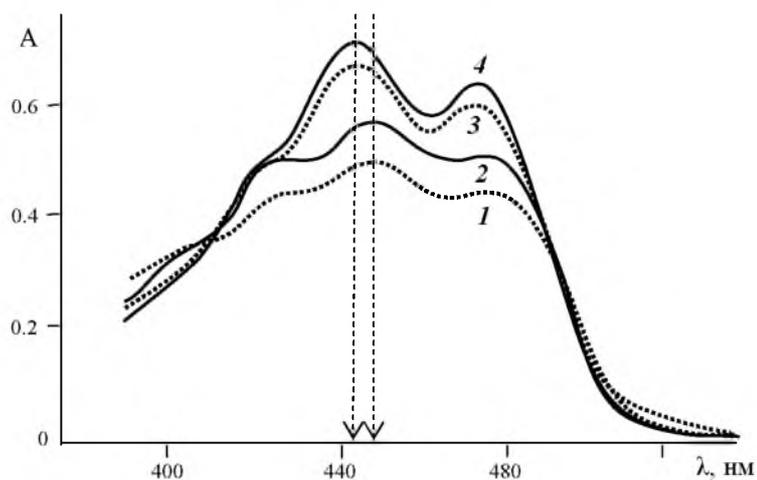


Рис. 5. Спектры ацетоновых экстрактов тыкв четырех сортов
Сорта: 1 - «Чудо-Юдо», 2 - «Жемчужина», 3 - «Красавица», 4 - «Пастила Шампань»

Спектры ацетоновых экстрактов мякоти тыкв сортов «Красавица» и «Пастила-Шампань» имели близкие спектры с максимумом поглощения около 445 нм с относительно «глубокой впадиной» между полосами справа, что соответствует лютеиновому типу комплекса. На спектрах ацетоновых экстрактов мякоти тыкв сортов «Жемчужина» и «Чудо-юдо» максимумы смещены вправо (до 448 нм) с менее выраженной впадиной, соответствующей каротиноидам с β -иононовыми концевыми фрагментами.

По оптической плотности экстрактов было определено содержание каротиноидов в исследованных тыквах (в пересчете на превалирующий каротиноид): 0.069 и 0.119 мг/г β -каротина в мякоти тыкв сортов «Жемчужная» и «Чудо-юдо», соответственно, и 0.041 и 0.046 мг/г лютеина – для сортов «Красавица» и «Пастила-Шампань».



Выводы

Таким образом, на Российском рынке представлены тыквы как каротинного, так и лютеинового типа, и они могут быть использованы для различных лекарственных и профилактических целей – для решения проблем недостатка витамина А в первом случае и для предохранения от возрастной макулярной дистрофии – во втором. При этом, однако, и в тыквах каротинного типа заметно накопление лютеина в виде диэфиров.

Работа была выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы, ГК П-174.

Список литературы

1. Жизнь растений. В шести томах / Гл. ред. А.Л. Тахтаджан – Т. 5, ч. 2. – М.: Просвещение, 1981. – 576 с.
2. Paris H.S. Historical Records, Origins, and Development of the Edible Cultivar Groups of *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*) // *Economic Botany*. – 1989. – Vol. 43. – P. 423-443.
3. Fu C., Shi H., Li Q. A Review on Pharmacological Activities and Utilization Technologies of Pumpkin // *Plant Foods for Human Nutrition*. – 2006. – Vol. 61. – P. 73–80.
4. Azevedo-Meleiro C.H., Rodriguez-Amaya D.B. Qualitative and Quantitative Differences in Carotenoid Composition among *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, and *Cucurbita pepo* // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – Vol. 55. – P. 4027-4033.
5. Гостищев И.А., Третьяков М.Ю., Анисимович И.П., Дейнека Л.А., Дейнека В.И. Оценка высушенных цветков бархатцев в качестве доступного источника диэфиров лютеина для целей хроматографической идентификации ксантофилов // *Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки*. – 2010. – № 15(86), Вып. 12. – С. 140-144.

INVESTIGATION OF PUMPKIN PULP CAROTENOID COMPOSITION

L.A. Deineka

I.A. Gostyshchev

V.I. Deineka

M.Yu. Tret'jakov

A.A. Sirotin

Belgorod State National Research University

Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia

E-mail: deineka@bsu.edu.ru

The paper is devoted to the investigation of pumpkin carotenoid composition of some Russian varieties. It has been established that for some of them α - and β -carotenes are the main components (these varieties may be utilized for prevention of avitaminosis) while for the others the lutein part is high just to use the pumpkin for prevention of macula degeneration. By the way, carotenoid type of the complex was not strictly determined by the *Cucurbita* species belonging.

Key words: *Cucurbita*, pumpkin, carotenes, lutein, HPLC.