

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТОЦИАНОВ 11 СОРТОВ РЕМОНТАНТНОЙ МАЛИНЫ

В.И. ДЕЙНЕКА
Л.А. ДЕЙНЕКА
В.Н. СОРОКОПУДОВ
И.С. ДУБЦОВА
Е.Б. МАЙОРОВА

*Белгородский государственный
 национальный
 исследовательский универси-
 тет, 308015, г. Белгород,
 ул. Победы, 85*

E-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе исследованы антоциановые комплексы плодов 11 сортов малины красной из коллекции Ботанического сада НИУ «БелГУ». Установлено, что антоцианы образованы в основном четырьмя производными цианидина Су-3-Glu, Су-3-Rut, Су-3-Sopho и Су-3-(2GluRut), биосинтез которых из Су-3-Glu обеспечивается двумя ферментами – 2^o-глюкозилтрансферазой и 6^o-рамнозилтрансферазой относительная активность которых может быть положена в основу хемосистематики растений по антоцианам.

Ключевые слова: антоцианы, *Rubus idaeus* L., гликозилтрансферазы, хемосистематика.

Введение

Малину можно отнести к числу наиболее популярных плодов (ягод) в центральной России. Ее вкусные и ароматные плоды по нраву и детям и взрослым, но ценится этот плод и благодаря лекарственным свойствам. В зависимости от сорта и условий выращивания в ягодах малины может накопиться от 5 до 11% сахаров, среди которых преобладают хорошо усвояемые фруктоза и глюкоза, 0,5 – 0,8 % белка, 0,6 – 0,9 % пектина, 1,2 – 2,3 % органических кислот. Ценной составной частью плодов малины являются такие биологически активные вещества, как аскорбиновая кислота (до 50 мг%), катехины (до 80 мг), антоцианы (100 – 250 мг), витамины В9, В12, Е и другие. Из минеральных соединений в малине довольно много железа (1200 мг), цинка (200 мг), меди (170 мг) и марганца (210 мг на 100 г сырого продукта) [1]. Высок уровень накопления этих веществ и в ремонтантных сортах малины, причем при снижении температуры вегетации уровень накопления аскорбиновой кислоты несколько повышается [2]. Среди органических кислот особое место в ягодах малины занимает салициловая кислота, обладающая бактерицидными, потогонными, жаропонижающими и обезболивающими свойствами [3].

Благодаря накоплению целого ряда биологически активных веществ малина как лекарственное средство применялась еще в глубокой древности. Свежие плоды малины хорошо утоляют жажду и благоприятно влияют на пищеварение. Запах (и частично – вкус) плодов малины обязан «кетону малины», – 4-(*пара*-гидроксибензил)-2-бутанону, который возбуждает аппетит, увеличивает выделение слюны, желудочного сока и желчи. Благодаря рекордному среди растений содержанию железа, а также благодаря наличию меди и фолиевой кислоты плоды полезны также при малокровии и цинге. Но особенно ценны плоды малины биосинтезом салициловой (*орто*-гидроксибензойной) кислоты – потогонного и жаропонижающего средства, это соединение применяется в медицине наружно в мазях и растворах при лечении кожных заболеваний (входит в состав пасты Лассара). Излечивающее и предупреждающее развитие простудных заболеваний. Таким образом, лечебный и профилактический эффект малины и продуктов ее переработки связан в основном с салициловой кислотой. Вероятно, поэтому еще до основания Москвы в России народ, не знавший чая, пил по утрам взварец из малины и клюквы.

О разведении малины сообщалось в литературных источниках, начиная с IV в.н.э. Выведение первых сортов малина красной *R. idaeus* в Европе датируется XVI-XVIII веками. В Америке в XVIII веке при выведении новых сортов использовали не только привезенную из Старого Света *R. idaeus*, но и местные виды – малину щетинистую (*R. strigosus* Minchx.) и малину восточную (*R. occidentalis* L.). Поэтому в настоящее время современные сорта малины красной считаются гибридами двух видов малины – *R. idaeus* и *R. strigosus*, а некоторые ботаники рассматривают оба вида как

подвиды *Rubus idaeus*: *R. idaeus* var. *idaeus* для европейских сортов или *R. idaeus* var. *strigosus* для Североамериканских сортов.

Для контроля наследования свойств при гибридизации видов можно использовать хемосистематику, в том числе и по антоцианам, – важнейшим природным антиоксидантам. В работах [4, 5] предлагалось контролировать антоциановые комплексы растительных объектов не по особенностям индивидуального состава видов антоцианов, а по активности ферментов, обеспечивающих их биосинтез в исследуемом образце. В настоящей работе представлены результаты такого подхода к исследованию антоциановых комплексов плодов некоторых сортов ремонтантной малины из коллекции ботанического сада НИУ БелГУ, собранных в сезоне 2012 г.

Материалы и методы

Антоцианы выделяли настаиванием растительного материала в 0.1 М водном растворе HCl. Экстракты отфильтровывали и очищали методом твердофазной экстракции на патронах ДИАПАК C18.

Состав и строение объектов исследования определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием хроматографа Agilent 1260 Infinity с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектором. Хроматографическая колонка 250×4.6 мм Symmetry C18 использовалась при определении антоцианов в элюенте 9 об.% ацетонитрила и 10 об.% муравьиной кислоты в воде, 1 мл/мин.

Результаты и обсуждения

Типичные хроматограммы антоциановых экстрактов плодов малины, исследованных в настоящей работе, представлены на рисунке.

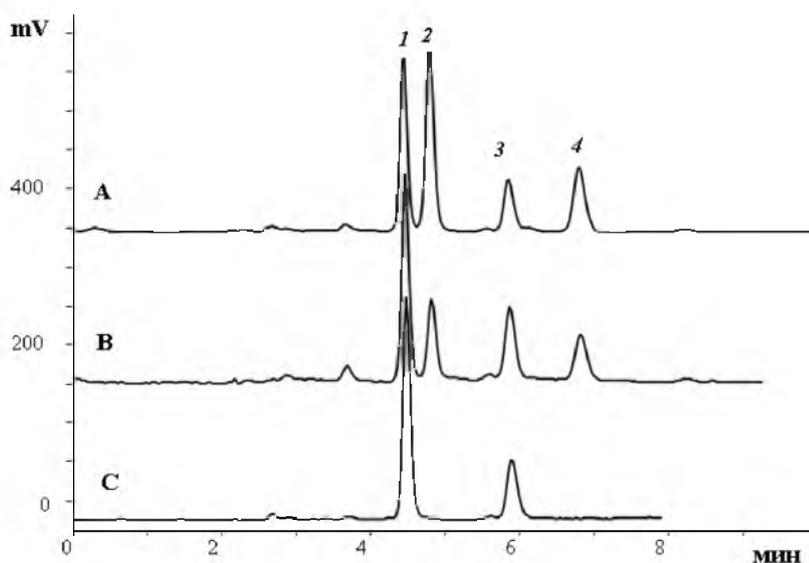


Рис. 1. Хроматограммы экстрактов плодов антоцианов

Колонка: 250×4.6 мм Symmetry C18, 5 мкм, подвижная фаза: 9 об.% ацетонитрила и 10 об.% муравьиной кислоты в воде, 1 мл/мин. Сорта малины: А – Снежеть; В – Бриллиант; С – Херитейдж. 1 – Су-3-Sopho; 2 – Су-3(2GluRut); 3 – Су-3-Glu; 4 – Су-3-Rut.

На хроматограммах основные пики принадлежат четырем производным цианидина. Если начинать с цианидин-3-глюкозида, то для биосинтеза цианидин-3-рутинозида – Су-3-Rut (из Су-3-Glu) и цианидин-3-(2"-глюкозилрутинозида) – Су-3(2GluRut) (из Су-3-Sopho) необходим один и тот же фермент – 6"-рамнозилтрансфераза (6"-RT). С другой стороны, для синтеза цианидин-3-софроза – Су-3-Sopho (из Су-3-Glu) и цианидин-3-(2"-глюкозилрутинозида) – Су-3(2GluRut) (из Су-3-Rut) необходимо наследование биосинтеза 2"-глюкозилтрансферазы (2"-GT). Здесь знаком “” отмечается положение присоединения второго углеводного радикала к глюкозидному радикалу, уже имеющемуся в исходной

молекуле в положении 3. Отметим, что во всех исследованных сортах малины активность 2"-ксилозилтрансферазы оказалась незначительной (наблюдаются только незначительные пики на хроматограммах в местах элюирования цианидин-3-самбубиозида и цианидин-3-(2"-ксилозилрутинозида) – в данном случае непосредственно перед и после пика Су-3-Glu. А это может свидетельствовать о том, что при выведении данных сортов либо не использовалась малина восточная, либо ее признаки оказались слабо выраженными. Мольные соотношения видов антоцианов, определенный в настоящей работе, сведены в табл.1.

Таблица 1

**Состав антоциановых комплексов плодов
некоторых сортов ремонтантной малины из коллекции
ботанического сада НИУ БелГУ, выращенных в сезоне 2012 г.**

№	Сорт малины	Доля по площадям пиков, моль. % Су-3-				Относительная активность ферментов, %	
		Sopho	(2GluRut)	Glu	Rut	6"-RT	2"GT
1	Херитейдж	68.8	0	26.5	0	0	68.8
2	Поляна	65.4	0	25.6	3.6	3.6	65.4
3	Брянская	65.9	5.7	21.9	4.1	9.8	71.7
4	Пингвин	46.9	8.7	31.1	8.7	17.4	55.6
5	Евразия	82.4	26.0	37.3	16.1	24.3	62.5
6	Бриллиант	39.6	20.1	20.8	14.0	34.1	59.8
7	Жар-птица	42.9	21.8	13.0	13.8	37.2	67.5
8	Атлант	45.9	35.5	19.2	13.4	40.8	67.9
9	Геракл	76.6	90.3	43.6	3.9	42.0	74.5
10	Снежень	15.2	31.3	17.9	31.9	63.3	46.6
11	Августовское чудо	19.4	38.6	10.0	24.7	63.3	58.0

В представленной таблице сорта малины разделены по активности 6"-RT – 6"-рамнозилтрансферазы. Несколько иным окажется порядок исследованных сортов, если за основу взять активность 2"GT – 2"-глюкозилтрансферазы. Следовательно, эти параметры в некотором смысле независимы друг от друга, поэтому именно комбинация активности двух гликозилтрансфераз однозначно определяет сорт малины по антоциановому составу. По-видимому, удобной формой представления полученных результатов может служить диаграмма, на которой активность этих трансфераз сопоставлена в графическом виде, рис.2.

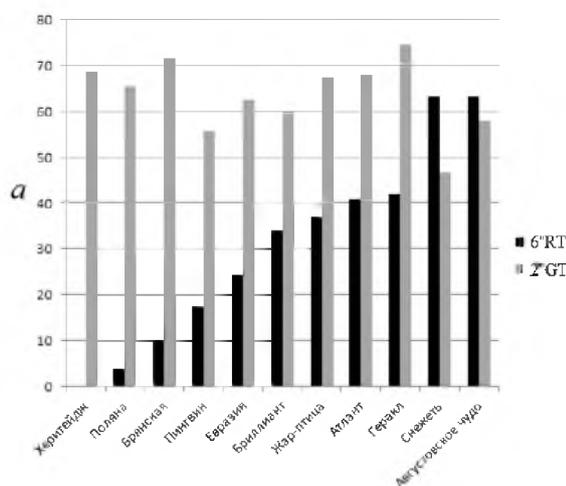


Рис.2. Сопоставление относительной активности двух гликозилтрансфераз



Для оценки наследования способности к биосинтезу антоцианов в конкретном случае необходимо знание типа антоцианового комплекса в плодах чистых линий видов малины (или любых других растений). К сожалению, по ряду причин, такое условие мало выполнимо. Для видов *Rubus* по данным обзора [6] можно составить таблицу (табл. 2), показывающую, какие ферменты синтезируются в плодах данного вида.

Таблица 2

Активные ферменты биосинтеза видов антоцианов (по [6])

	Виды рода <i>Rubus</i>	Агликоны	6"-RT	2"-GT	2"-XT	5-GT	MT*
1	<i>R. acuminatus</i> Sm.	Cy	+	-	-		-
2	<i>R. adenotrichos</i> Schmitdl	Cy	-	-	-		+
3	<i>R. arcticus</i> L.	Pg, Cy	-	-	-		+
4	<i>R. chamaemorus</i> L.	Cy	+	+	-		-
5	<i>R. coreanus</i> Miq.	Cy, Pg, Dp	+	-	+		-
6	<i>R. glaucus</i> Benth.	Cy, Pg	+	-	+		-
7	<i>R. idaeus</i> L.	Cy, Pg	+	+	-	+	-
8	<i>R. jamaicensis</i> L.	Cy	-	-	-	-	+
9	<i>R. malucanus</i> L.	Cy, Pg	+	-	-	-	-
10	<i>R. occidentalis</i> L.	Cy, Pg	+	-	+	-	-
11	<i>R. odoratus</i> L.	Cy, Pg	+	-	-	-	-
12	<i>R. parviflorus</i> L.	Cy, Pg	+	-	-	-	-
13	<i>R. pinnatus</i> Willd.	Cy	+	-	-	-	-
14	<i>R. racemosus</i> Roxb.	Cy	+	-	-	-	-
15	<i>R. rigidus</i> Sm.	Cy	+	-	-	-	-
16	<i>R. rosifolius</i> Sm.	Cy, Pg	+	-	-	-	-

Как видно из представленных в табл.2 данных, кроме рассмотренных выше ферментов при оценке антоцианового комплекса следует учитывать еще 5-глюкозилтрансферазу – 5-GT – ее продуктом может быть, например, цианидин-3,5-диглюкозид, малонилтрансферазу (MT). Поскольку установлено, что в ряде случаев обнаруживаются производные пеларгонидина, то для полноты описания антоцианового комплекса следует оценить активность флавонол-3'-гидроксилазы и, возможно, активность флавонол-3',5'-гидроксилазы. Кроме того, известны работы, в которых сообщалось об обнаружении в антоциановых комплексах плодов растений вида *Rubus* таких соединений, как цианидин-3-ксилозид, цианидин-3-глюкозид, ацилированный щавелевой кислотой.

Выводы

Антоцианы плодов 11 сортов ремонтантной малины из коллекции Ботанического сада НИУ БелГУ образованы в основном четырьмя производными цианидина Cy-3-Glu, Cy-3-Rut, Cy-3-Sopho и Cy-3-(2GluRut), биосинтез которых из Cy-3-Glu обеспечивается двумя ферментами – 2"-глюкозилтрансферазой и 6"-рамнозилтрансферазой относительная активность которых может быть положена в основу хемосистематики растений по антоцианам.

Список литературы

1. Казаков И. В. Малина и ежевика. Москва: «Фолио», 2001 – С. 17-28.
2. Евдокименко С.Н., Никулин А.Ф., Бохан И.А. Оценка сортов ремонтантной малины по биохимическим показателям ягод // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2008. – № 3. – С. 49-53.
3. Косолапова Г.Н. Биохимические показатели сортов малины в условиях Кировской области // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2006. – № 8. – С. 47-49.
4. Сорокопудов В.Н., Дейнека В.И., Лукина И.П., Дейнека Л.А. Антоцианы плодов некоторых видов рода *Rubus* L. из коллекции ботанического сада БелГУ // Химия растительного сырья. – 2005. – №4. – С. 61-65.
5. Дейнека Л.А., Литвин Ю.Ю., Дейнека В.И. Критерии для классификации винограда по антоциановому комплексу плодов // Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. 2008. – №7(47), Вып.7. – С. 71-78.



6. Lee J., Dossett M., Finn C.E. Rubus fruit phenolic research: The good, the bad, and the confusing // Food Chem. – 2012. – V.130. – P. 785-796.

INVESTIGATION OF ANTHOCYANINS OS 11 VARIETIES OF RUBUS IDEAUS

V.I. DEINEKA

L.A. DEINEKA

V.N. SOROKOPUDOV

LS. DUBZOVA

E.B. MAIOROVA

*Belgorod State National
Research University, 308015,
Belgorod, Pobeda-str., 85.*

E-mail: deineka@bsu.edu.ru

Anthocyanins of fruits of 11 *Rubus idaeus* L. varieties of NRU BelSU Botanical garden were investigated. It has been found that the complexes are composed of four cyanidine derivatives: Cy-3-Glu, Cy-3-Rut, Cy-3-Sopho and Cy-3-(2GluRut). Anthocyanins biosynthesis is provided by action of two enzymes – glycosyltransferases: 2"-glucosyltransferase and 6"-rhamnosyltransferase: while the relative transferases activity is proposed to explore for *Rubus* chemosystematics.

Key words: anthocyanins, *Rubus idaeus* L., glycosyltransferases, chemosystematics.