



УДК 615.322:543.544.123

АНТОЦИАНЫ ПЛОДОВ ВИШНИ И РОДСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ¹

Л.А. Дейнека
А.Н. Чулков
В.И. Дейнека
В.Н. Сорокопудов
С.М. Шевченко

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 308015 Белгород, Россия, ул. Победа.85

e-mail: deineka@bsu.edu.ru
Ach87@mail.ru, Deyneka@bsu.edu.ru
sorokopudov@bsu.edu.ru
shevchenko_s@bsu.edu.ru

В работе определен антоциановый состав плодов ряда вишен из ботанического сада БелГУ. Предложен метод сопоставления состава комплекса по активности соответствующих ферментов: рамнозил-трансферазы, внедряющей рамнозидный радикал в положение 6 глюкозидного радикала и глюкозил-трансферазы, внедряющей глюкозильный радикал в положение 2 имеющегося глюкозидного радикала, что обеспечивает биосинтез всего спектра известных производных цианидина. Установлено, что наивысшим уровнем накопления антоцианов из исследованных образцов отличается вишня «антипка», *Cerasus mahaleb* – 550 ÷ 750 мг на 100 г свежих плодов.

Ключевые слова: ВЭЖХ, антоцианы, *Cerasus* sp., *Prunus avium*, *Prunus padus*.

Введение

Природные фенольные соединения вообще и антоцианы в частности относятся к важнейшим природным антиоксидантам [1, 2]. Биосинтез в плодах вишен значительного количества антоцианов позволяет их рассматривать даже как компоненты функциональной пищи [2]. Антоцианы из плодов вишен обеспечивают плодам высокую антиоксидантную и противовоспалительную активность (противовоспалительная активность цианидина выше, чем у аспирина) [3], замедляют развитие опухолей (по опытам на мышах), раковых клеток толстой кишки [2]. Эпидемиологические исследования показали, что потребление продуктов, содержащих большое количество фенольных соединений обратно коррелирует с частотой заболеваний сердечно-сосудистой системы [4]. Эти соединения замедляют развитие атеросклероза благодаря антиоксидантному действию, защищая липопротеины низкой плотности.

Анализируя собственные и литературные данные по биосинтезу антоцианов в плодах вишен, авторы работы [4], указывают на то, что в антоциановом комплексе плодов вишен обычно обнаруживают: 1) цианидин-3-глюкозид (Cy-3-Glu), 2) цианидин-3-(2"-глюкозилрутинозид) (Cy-3^{2G}Rut), 3) цианидин-3-софорозид (Cy-3-Sopho), 4) цианидин-3-рутинозид (Cy-3-Rut) и некоторые из аналогичных производных пеонидина, или соединений, в состав которых входит ксилозильный радикал; но они присутствуют в небольших количествах.

Первые четыре из указанных выше соединений рассматриваются как основные компоненты антоцианового комплекса плодов вишен и в работе итальянских исследователей с соотношением между ними и суммарным накоплением (от 28 до 80 мг на 100 г) зависящими от сорта [2]. В работе других авторов [5] сообщается об образовании тех же веществ, но к списку добавлены два производных пеларгонидина.

Несмотря на то, что работ, в которых бы исследовалась биологическая активность индивидуальных составляющих сложных антоциановых комплексов, практически нет, информация об индивидуальном составе таких комплексов представляет интерес по ряду причин, включая оценку качества и установление фальсификации получаемой из вишен продукции.

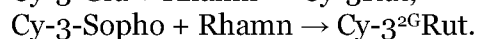
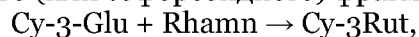
¹ Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., государственный контракт № П425 и государственный контракт № П508.



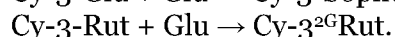
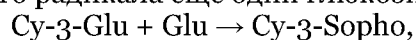
Результаты исследования и их обсуждение

Для системного анализа особенностей антоцианового комплекса нами ранее был предложен метод анализа по активности соответствующих ферментов [7, 8]. В случае вишен следует выделить:

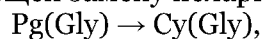
1) активность рамнозилтрансферазы (RT), переносящей в положении 6'' глюкозидного (или софорозидного) фрагмента рамнозильный радикал:



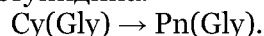
2) активность глюкозилтрансферазы (${}^2\text{GT}$), переносящей в положение 2'' глюкозидного радикала еще один глюкозильный радикал:



К этому следует добавить лишь активность 3'-флавонолгидроксилазы, обеспечивающей замену пеларгонидиновых производных цианидиновыми:



и метилтрансферазы, превращающей уже производные цианидина в производные петунидина.



По нашим представлениям, основанным на анализе жирнокислотного состава масел семян, мы выделили три растения – вишню, черешню и черемуху – как близкие родственные растения, единственные из семейства Розовые, синтезирующие триглицериды, содержащие радикалы α -элеостеариновой кислоты – триеновой кислоты с сопряженными двойными связями [9]. По этой причине объектами настоящих исследований мы избрали плоды этих растений.

По характеру хроматограмм антоциановые экстракты можно разделить на несколько различных типов, см. рис.1. Отнесение, предложенное на рис.1 было выполнено с использованием двух закономерностей.

Во-первых, используя хроматограммы экстракта черного винограда, были определены времена удерживания основных неацелированных компонентов, присутствующих практически во всех окрашенных в цвета от красного до черного плодах - 3-глюкозидов дельфинидина, цианидина, петунидина, пеонидина и мальвидина [8]. Но сопоставление удерживания в этом случае позволяет определить только цианидин-3-глюкозид. Цианидин-3-рутинозид обнаружили сопоставлением временем удерживания образца и компонентов антоцианового экстракта плодов черной смородины, также обладающей постоянным качественным составом вне зависимости от сорта [10].

Во-вторых, для детектирования остальных компонентов использовали ранее установленные закономерности элюирования гликозидов с различным составом гликозидного фрагмента [11], а также в сопоставлении с удерживанием антоцианов плодов красной смородины и бузины обыкновенной.

Наконец, в качестве дополнительного подтверждения справедливости полученного отнесения мы использовали запись спектров веществ в ячейке детектора, что позволяет разделить производные дельфинидинового (включающего дельфинидин, петунидин и мальвидин) и цианидинового (цианидина и пеонидина) рядов, рис.2. И, наконец, присутствие в исследуемой смеси только одного основного агликона (цианидина) было подтверждено ВЭЖХ анализом продукта омыления экстракта, получаемого кипячением экстракта в 10%-ном растворе серной кислоты в течение 0.5 ч с последующей очисткой агликона твердофазной экстракцией на патронах ДИАПАК С18.

В сводной таблице 1 представлены данные по большому числу исследованных образцов экстрактов вишен и родственных растений. Антоциановый комплекс вишни степной, например, образован в основном рутинозидным производным, Cy-3-Rut, что указывает на высокую активность RT и низкую активность ${}^2\text{GT}$. В случае вишни «антипки» активность первого из упомянутых ферментов примерно вдвое меньше. У ряда

сортов вишни обыкновенной высока активность обоих ферментов, что обеспечивает биосинтез основного компонента - Cy-3^{2G}Rut.

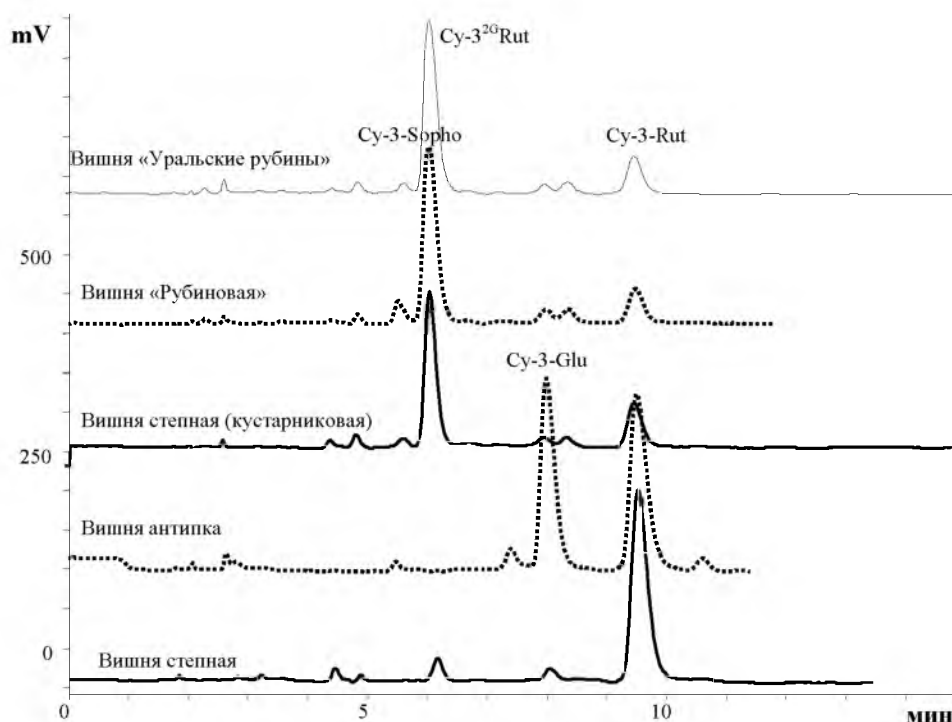


Рис.1. Разделение компонентов экстрактов плодов некоторых вишен

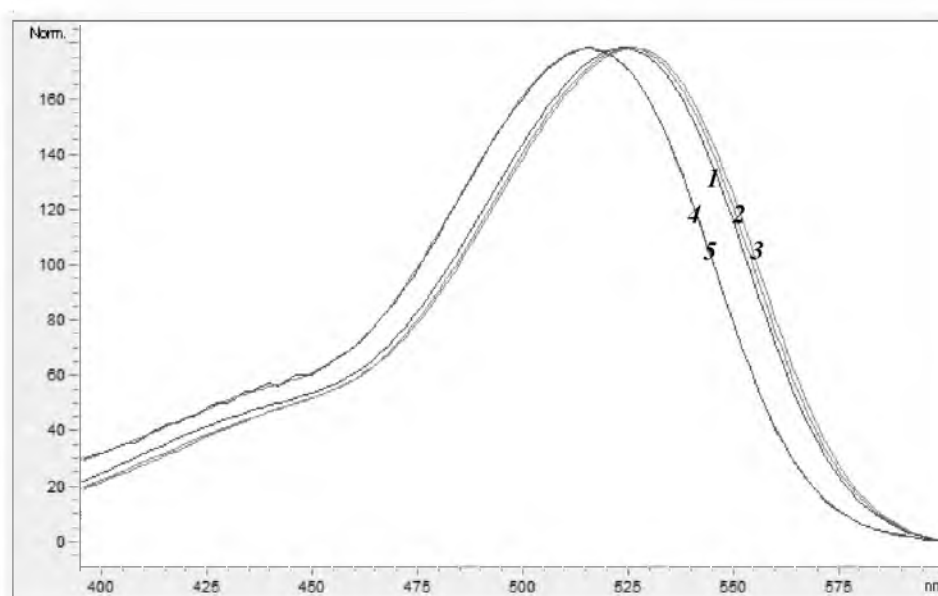


Рис.2. Сопоставление спектров поглощения 3-глюкозидов дельфинидина (1), петунидина(2) и мальвидина (3), цианидина(4) и пеонидина (5)



Таблица 1

**Компонентный состав антоцианов плодов вишни
и родственных соединений**

Сорт / Вид	Доля антоциана*, %							Ост.
	Су-3-				Pг-3-		Pн-3-	
	Sopho	² G ⁺ Rut	Glu	Rut	Glu	Rut	Rut	
Вишня обыкновенная, <i>Prunus cerasus</i> L. или <i>Cerasus vulgaris</i> Mill.								
Щедрая	10.8	63.5	2.2	12.4	0	0	0	9.1
Золушка	1.2	64.9	6.0	23.3	0	0	0	1.6
Расплетка	2.6	62.8	4.8	25.9	0	0	0	4.0
Быстринка	<0.5	63.6	8.9	23.7	0	0	0	3.7
Уральская красавица	1.1	62.4	5.8	25.4	0	0	0	2.3
Багряная	3.0	4.4	4.4	85.5	0	0	0	2.7
Куйбышевская ранняя	<0.5	4.6	5.5	81.8	0	0	0	8.1
Прима	<0.5	<0.5	2.0	83.1	0	0	0	14.9
Хуторянка	<0.5	3.5	6.3	83.2	0	0	0	7.0
Сильва	<0.5	<0.5	1.9	79.8	0	0	0	18.3
Родственные растения								
Черешня, <i>Prunus avium</i>	0.8	0.9	13.0	78.6	0	0	3.5	3.1
Черемуха, <i>Prunus padus</i>	4.5	<0.5	33.7	59.1	0	0	0	1.8
Церападус	<0.5	<0.5	7.7	70.4	0	0	18.8	3.1
Вишни								
«Антипка», <i>Cerasus mahaleb</i>	<0.5	<0.5	43.7	51.6	<0.5	0	0	4.7
Степная (кустарниковая) <i>Cerasus fruticosa</i>	3.3	59.7	4.2	22.2	0	0	0	6.7
Степная, <i>Cerasus fruticosa</i>	<0.5	6.1	4.7	82.3	0	0	0	6.8
Войлочная, <i>Cerasus tomentosa</i>	<0.5	<0.5	2.8	12.4	4.3	77.0	0	3.5

Для оценки антоцианового состава плодов вишен по активности ферментов можно предложить два параметра:

1) активность RT, которая может быть рассчитана по сумме долей каждого из компонентов, содержащих рамнозильный радикал:

$$\alpha(RT) = \frac{[Cy-3-Rut] + [Cy-3-(2GluRut)]}{\text{Сумма всех производных цианидина}}$$

2) активность ²GT, которая может быть рассчитана по доле каждого из компонентов, содержащих глюкозильный радикал в положении 2^o:

$$\alpha(2GT) = \frac{[Cy-3-Sopho] + [Cy-3-(2GluRut)]}{\text{Сумма всех производных цианидина}}$$

Как видно из представленных в таблице 2 данных, примерно половина сортов вишен вне зависимости от уровня суммарного накопления антоцианов характеризуется высокой относительной активностью RT, что приводит к доминированию среди антоцианов двух соединений – Су-3-Rut Су-3-²GRut. К такому типу относится значительное число сортов, как данные о которых опубликованы в научной литературе, так и исследованных нами из числа плодов, полученных из других источников: «Малиновка», «Сибирская», «Ленинградская скороспелая», «Кентская», «Гирлянда», «Шубинка», «Ленинградская», «Уральская рубиновая», «Тургеневская», «Владимирская», «Апхутинская», «Рогнеда», хотя в этом же ряду снижается активность ²GT с 84 до 44 %.

У других, несколько реже (по нашим данным) встречающихся, но также типичных представителей вишен, основной компонент экстракта Су-3Rut. С низкой активностью ²GT: «Прима», «Хуторянка» и «Сильва», напоминающих по этому параметру че-



решни, черемуху и церападус; к ним примыкают также вишня степная и вишня «антипка». Из ранее исследованных нами плодов к этому типу можно добавить сорта: «Ровестник», «Лебедянская», «Десертная Морозовой», «Багряная» и «Сильва».

Что же касается вишни войлочной, то у нее активность флаванол-3'-гидроксилазы оказывается крайне низкой, табл.1, что приводит к накоплению производных пеларгонидина.

По абсолютному накоплению антоцианов вишня обыкновенная относится к умеренным источникам – содержание антоцианов находится в диапазоне 0.030 ÷ 0.160 г на 100 г свежих плодов. В случае черемухи накопление антоцианов несколько выше (360 мг на 100 г), в гибриде этих двух растений уровень накопления антоцианов промежуточный (180 мг на 100 г). Но наиболее богатым по антоцианам оказались плоды вишни «антипки» – 550 ÷ 750 мг на 100 г, что делает их ценным сырьем для получения природных антоциановых колорантов, тем более что эти плоды в пищу не используют (человек, но не птицы!, которым очень по вкусу этот богатейший источник антиоксидантов).

Таблица 2

Характеристики действия ферментных систем, отвечающих за накопление антоцианов в плодах вишен

№	Сорта <i>Cerasus vulgaris</i> или виды <i>Cerasus</i>	Активность ферментов, %		Суммарное накопление*
		RT	2GT	
1	Щедрая	85.4	87	0.025
2	Золушка	92.5	71.5	0.114
3	Расплетка	92.3	70.9	0.102
4	Быстринка	90.7	70.1	0.117
5	Уральская красавица	92.7	68.5	0.086
6	Багряная	92.4	8.01	0.058
7	Куйбышевская ранняя	94.0	4.89	0.05
8	Прима	97.6	0	0.069
9	Хуторянка	93.0	0	0.12
10	Сильва	97.7	0	0.025
11	Церападус	90.1	0	0.193
12	«Антипка», <i>Cerasus mahaleb</i>	54.1	0	0.629
13	Степная (кустарниковая), <i>Cerasus fruticosa</i>	91.6	68.8	0.103
14	Степная, <i>Cerasus fruticosa</i>	95	6.42	0.156

* - в пересчете на цианидин-3-глюкозид.

Список литературы

1. Lila M.A. Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach // J. Biomed. Biotechnol. – 2004. – V.2004. – P. 306–313.
2. Blando F., Gerardi C., Nicoletti I. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods // J. Biomed. Biotechnol. – 2004. – V.5. – P. 253–258.
3. Wang H., Nair M.G., Strasburg G.M., Chang Y.-C., Booren A.M., Gray J.I., DeWitt D.L. Antioxidant and Antiinflammatory Activities of Anthocyanins and Their Aglycon, Cyanidin, from Tart Cherries // J. Nat. Prod. – 1999. – V.62. – P. 294–296.
4. Šimunić V., Kovač S., Gašo-Sokač D., Pfannhauser W., Murkovic M. Determination of anthocyanins in four Croatian cultivars of sour cherries (*Prunus cerasus*) // Eur. Food Res. Technol. – 2005. – V.220. – P. 575–578.
5. Chaovanalikit A., Wrolstad R.E. Anthocyanin and Polyphenolic Composition of Fresh and Processed Cherries // J. Food Sci. – 2004. – V.69. – P. FCT73–FCT83.
6. Giusti M., Wrolstad R.E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy // Current Protocols in Food Analytical Chemistry. – 2001. – F1.2.1–F1.2.13.
7. 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.



8. 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.
9. Дейнека В.И., Григорьев А.М., Дейнека Л.А., Ермаков А.М., Сиротин А.А., Староверов В.М. Анализ компонентного состава антоцианов плодов и жирных кислот масел семян некоторых видов семейства Rosaceae методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Растительные ресурсы. - 2005. - Вып.1. - С. 91-98.
10. 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.
11. Дейнека В.И., Григорьев А.М. Относительный анализ удерживания гликозидов цианидина. // Ж. физ. химии. - 2004. - Т. 78, №5. - С.923-926.

SOUR CHERRY FRUIT AND RELATED PLANTS ANTHOCYANINS

LA. Deineka

A.N. Chulkov

V.I. Deineka

V.I. Sorokopudov

S.M. Shevchenko

*Belgorod National Research
University, 308015, Belgorod,
Russia, Pobeda str.85*

*e-mail: deineka@bsu.edu.ru
Ach87@mail.ru
Deyneka@bsu.edu.ru
sorokopudov@bsu.edu.ru
shevchenko_s@bsu.edu.ru*

In the paper anthocyanin composition of series sour cherry fruits harvested in Belgorod State University Botanical Garden is reported. The approach is proposed based upon certain enzyme activity - 6"-O-rhamnosyltransferase as well as 2"-O-glucosyltransferase; that provide biosynthesis of all the series of cyanidine derivatives. Fruits of *Cerasus mahaleb* accumulate the maximum (550 ÷ 750 mg per 100 g fresh fruit) doze of antocyanins among the other fruits under investigation.

Key words: HPLC, anthocyanins, *Cerasus* sp., *Prunus avium*, *Prunus padus*.