

УДК 582.734.3:57.014

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ АНТОЦИАНОВ ПЛОДОВ *ARONIA MELANOCARPA* (MICHX) ELLIOT, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ЮГО-ЗАПАДЕ БЕЛАРУСИ

Н.Ю. Колбас, А.П. Колбас, Н.М. Матусевич

УО «Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина», г. Брест, Республика Беларусь

*Состав и содержание антоцианов плодов Аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) изучены методом ВЭЖХ-МС. Выявлено наличие производных цианидина и неонидина. Доминирующим антоцианом является цианидин 3-О-галактозид. Общее содержание антоцианов в сухих плодах составляет $58,17 \pm 0,31$ в пересчете на цианидин-гликозид.*

Введение

Арония черноплодная (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot, семейство Rosaceae Juss. – Розоцветные) – сравнительно молодая культура для Республики Беларусь. Она выращивается с начала XIX века, главным образом, в ботанических садах в качестве декоративной культуры. В настоящее время растения *A. melanocarpa* культивируются на частных подворьях, широко используются в зеленом строительстве и лечебной практике [1].

Биологическая ценность *A. melanocarpa* определяется, прежде всего, содержанием целого спектра биоактивных веществ, весьма необходимых для человека. В предыдущей нашей работе показана высокая антиоксидантная активность экстрактов плодов *A. melanocarpa* [2], что позволяет рекомендовать их как профилактическое средство развития в организме окислительного стресса и связанных с ним патологий.

Возможно использование плодов Аронии, а также их экстрактов в качестве натуральных красителей пищевой и косметической продукции, что

предполагает детальное изучение состава их антоцианов.

Установлено, что качественный и количественный состав антоцианов предопределен как генетическими особенностями растений, так и климатическими условиями произрастания [3]. В литературе имеются данные о биохимическом составе плодов растений *A. melanocarpa*, произрастающих на территории Польши [4], Словакии [5], Англии [6] и США [7]. Сведения о компонентном составе антоцианов плодов растений Аронии, культивируемых на территории РБ, нами не найдены.

Целью работы было детальное изучение антоцианов плодов Аронии черноплодной, произрастающей на территории отдела «Агробиологии» Центра экологии УО «БрГУ имени А.С. Пушкина».

Материал и объекты исследования

Свежесобранные плоды *A. melanocarpa* (в стадии коммерческой спелости) подвергали глубокой заморозке при температуре -40°C , затем сушили сублимацией без доступа света (лиофилизатор Alpha 2-4, «Christ», Германия) и измельчали до частиц диаметром 1 мм (вибрационная мельница MM 200, «Retsch», Германия). Антоцианы из растительного сырья извлекали многократной экстракцией 1%-ной соляной кислотой в 90%-ном этаноле. Затем экстрагент отгоняли под вакуумом и при температуре $+30^{\circ}\text{C}$ (ротаторный испаритель LABOROTA 4002 control «Heidolph», Германия), а полученные остатки сушили сублимацией без доступа света. Непосредственно перед анализом сухие остатки растворяли в 50%-ном метаноле (до концентрации 10 г/л) и фильтровали через мембранный шприцевый фильтр (R-24 с диаметром пор 0,45 мкм).

Антоцианы плодов анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС). ВЭЖХ проводили используя систему сепарации и анализа Hewlett-Packard-1100 («Agilent», Франция), оснащенную помповым модулем и УФ-детектором. Разделение компонентов осуществляли на хроматографической колонке с обращенной фазой C18 Kinetex («Phenomenex», Франция; $100 \times 2,1$

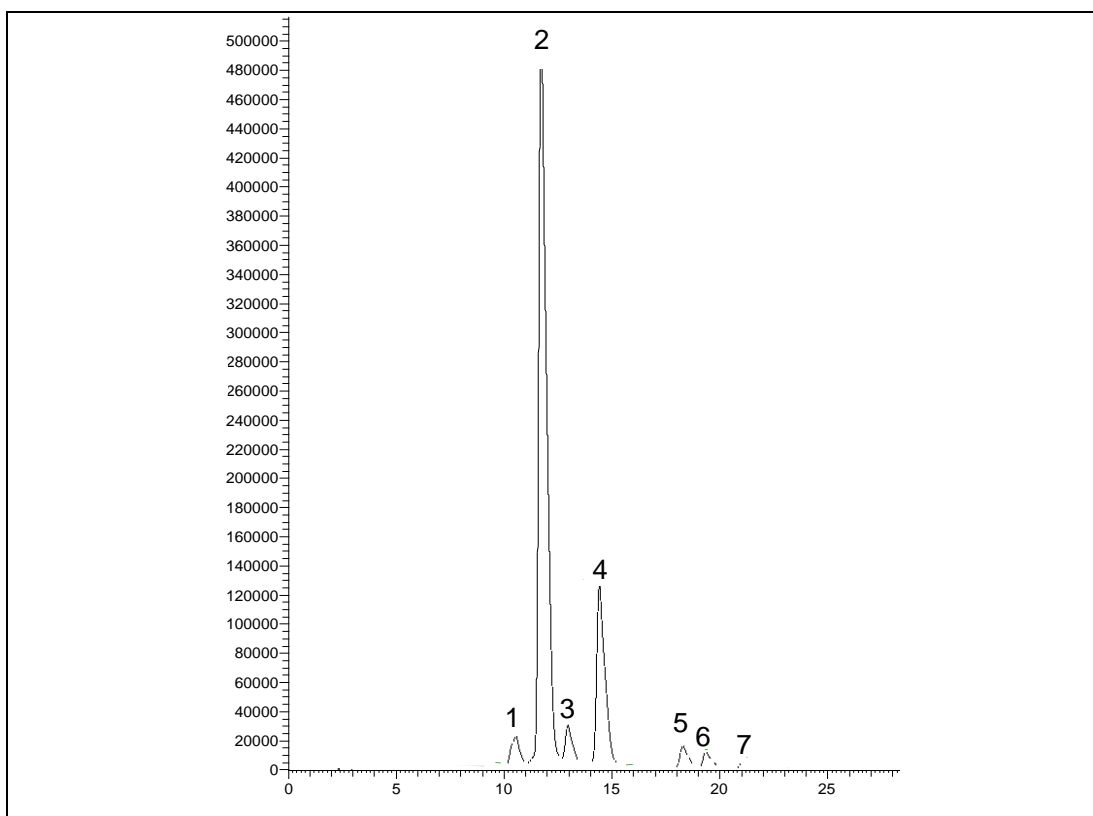
мм; размер частиц силикагеля 1,7 мкм). Элюирование вели при температуре +40°C и фиксированной пропускной способности 0,2 мл в минуту, при этом объем инъекционного образца составил 20 мкл. В качестве мобильной фазы *A* использовали водный раствор муравьиной кислоты (0,1% концентрации – для качественного анализа антоцианов и 5% – для количественного), мобильной фазой *B* был 5% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Был применен следующий градиент элюирования: 7% *B* – в начале; 26% *B* – до 25 минут; 26-100% *B* – 25-26 минут; промывка колонки в течение 3 минут 100% *B* и стабилизация системы 5 минут при 7% мобильной фазе *B*. Длина волны детектирования составила 520 нм. Для идентификации антоцианов использовали простой квадрупольный масс-спектрометр Micromass-Beckman («Beckman», Франция), снабженный устройством электроспрея ионов. Пробы анализировались при полном сканировании MS-зависимых данных для модели положительно заряженных ионов с соотношением молекулярная масса/заряд (m/z) от 100 до 1000. Температура осушающего газа составила 120°C, напряжение на капилляре было 3,5 кВ, напряжение на конусе – 30 эВ. Программное обеспечение анализа – Masslynx 3.4 software («Agilent Corp.»).

Концентрацию каждого антоциана и общее их содержание выражали в пересчете на мг цианидин глюкозида, приходящегося на грамм сухих плодов (мг ЦГ/г). Для построения калибровочной кривой использовали эффективный диапазон концентраций стандарта - 10, 20, 30, 40, 50 мг/л. Все опыты проводили в трехкратной повторности.

Результаты и их обсуждение

Строение агликона, тип и количество сахаров, положение гликозидной связи, а так же наличие алифатических и ароматических кислот в составе молекулы – отличительные признаки отдельных антоцианов [3, 6]. Использование ВЭЖХ-МС анализа позволило эффективно разделить и идентифицировать компоненты антоцианового комплекса плодов *A. melanocarpa*. Хроматограмма содержит 7 пиков индивидуальных антоцианов (рисунок 1), которые в ходе анализа были полностью идентифицированы

(таблица 1). Шесть антоцианов являются производными цианидина, один – пеонидина. Гликозильный компонент представлен моносахаридами: пентозами – арабинозой и ксилозой, гексозами – глюкозой и галактозой. Остатки уксусной и щавелевой кислот образуют ацильный компонент антоцианов.



по оси абсцисс – uAU, по оси ординат – время удерживания, мин;
антоцианы: 1 – цианидин 3,5-*O*-диглюкозид; 2 – цианидин 3-*O*-галактозид; 3 –
цианидин 3-*O*-глюкозид; 4 – цианидин 3-*O*-арабинозид; 5 – цианидин 3-*O*-
ксилозид; 6 – пеонидин 3-*O*-(6"-ацетил-глюкозид); 7 – цианидин 3-*O*-(6"-
диоксалил-глюкозид)

Рисунок 1 – Хроматограмма экстрактов плодов *Aronia melanocarpa*

Сопоставление полученных результатов с описанными в литературе данными [4–7], выявило ряд отличий. В большинстве работ [4, 5, 7] показано, что антоцианы плодов аронии включают лишь 4 компонента: цианидин 3-*O*-

галактозид, цианидин 3-*O*-глюкозид, цианидин 3-*O*-арабинозид и цианидин 3-*O*-ксилозид. X. Wu с соавторами (2004) [7] указывают на наличие восьми антоцианов, которые являются производными цианидина и пеларгонидина, а также не имеют ацильный компонент.

Таблица 1 – Компонентный состав антоцианов плодов *Aronia melanocarpa*

№ пика	RT, (мин)	<i>m/z</i>		Антоциан	
		[M ⁺]	Фрагменты	Название	Концентрация (мг ЦГ/г)
1	10,5	610	287/449/610	цианидин 3,5- <i>O</i> -диглюкозид	3,49±0,07
2	11,7	449	287	цианидин 3- <i>O</i> -галактозид	36,66±0,35
3	12,9	449	287	цианидин 3- <i>O</i> -глюкозид	3,81±0,01
4	14,4	419	287	цианидин 3- <i>O</i> -арабинозид	8,20±0,08
5	18,3	419	287	цианидин 3- <i>O</i> -ксилозид	2,40±0,01
6	19,3	505	301/505	пеонидин 3- <i>O</i> -(6''-ацетил-глюкозид)	2,03±0,03
7	21,2	593	287/593	цианидин 3- <i>O</i> -(6''-диоксалил-глюкозид)	1,58±0,02
Общее количество антоцианов:					58,17±0,31

Примечание: RT – время удерживания; *m/z* – отношение молекулярной массы к заряду; [M⁺] – молекулярная масса положительного иона антоциана (а.е.м.), ЦГ – цианидин глюкозид

Таким образом, наличие в биохимическом составе плодов цианидин 3,5-*O*-диглюкозида, цианидин 3-*O*-(6''-диоксалил-глюкозида), а также пеонидин 3-*O*-(6''-ацетил-глюкозида) может служить биомаркером для растений *A. melanocarpa*, произрастающих на территории отдела «Агробиологии».

Доминирующим антоцианом изученных плодов является цианидин 3-*O*-галактозид, что согласуется с литературными данными [4–7]. По нашим данным его процентное содержание составляет 63,02% от суммы площадей всех

зарегистрированных пиков хроматограммы при $\lambda=520$ нм. Относительное содержание других антоцианов плодов *A. melanocarpa* следующее: 14,1% – цианидин 3-*O*-арабинозид, 6,55% – цианидин 3-*O*-глюкозид, 6,0% – цианидин 3,5-*O*-диглюкозид, 4,12% – цианидин 3-*O*-ксилозид, 3,49% – пеонидин 3-*O*-(6''-ацетил-глюкозид) и 2,72% от площадей всех пиков антоцианов приходится на цианидин 3-*O*-(6''-диоксалил-глюкозид). Общее количество антоцианов для сухих плодов *A. melanocarpa* в нашем исследовании составило 58,17 мг ЦГ/г (таблица 1), что примерно в 3 раза превышает данные, имеющиеся в литературе [4, 5]. Таким образом, плоды исследованной нами Аронии черноплодной, произрастающей в юго-западном регионе Беларуси, характеризуются довольно высоким содержанием антоцианов.

Согласно рекомендациям [8] суточная доза антоцианов для взрослого человека должна составлять 240-480 мг стандартизированного растительного экстракта (чаще плодов черники), содержащего 25% антоцианозида. Нами рассчитано, что употребление в пищу 5 г сухих плодов Аронии обеспечит организм взрослого человека суточной дозой антоцианов.

Выводы

В результате проведенного ВЭЖХ-МС анализа нами были получены оригинальные данные о компонентном составе антоцианового комплекса плодов *A. melanocarpa*, которые могут быть использованы в систематике и таксономии растений, а так же для стандартизации и установления подлинности продукции, созданной на основе этого растительного материала. Полученные данные о высоком содержании производных цианидина дают основу для последующих клинических испытаний способности плодов *A. melanocarpa* в организме животных и человека предотвращать возникновение и развитие некоторых нарушений зрения. Благодаря высокому содержанию антоцианов плоды изученного вида можно рекомендовать к применению в пищевой, косметической промышленности в качестве натурального красителя и источника антиоксидантов.

Литература

1. Бобореко, Е.З. Родовые комплексы лиственных древесных растений и их использование в Беларуси / Е.З. Бобореко. – Минск : Тэхналогія, 2001. – 68с.
2. Колбас, Н.Ю. Скрининг антирадикальной активности плодов растений методом *ORAC* / Н.Ю. Колбас, И. Ки // Молодежь в науке – 2011: прил. к журн. «Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». Ч 3. Сер. биологич. наук; Сер. мед. наук / редкол. серии биол. наук: И. Д. Волотовский [и др.] – Минск : Беларус. навука, 2012. – С. 77-80.
3. Climate Effects on Anthocyanin Accumulation and Composition in the Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit Arils / H. Borochoy-Neori [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2011. – Vol. 59, № 10. – P. 5325–5334.
4. Oszmianański, J. *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity / J. Oszmianski, A. Wojdylo // Eur. Food. Res. Technol. – 2005. – № 221. – P. 809–813.
5. Regulation of the Phenolic Profile of Berries Can Increase Their Antioxidant Activity / J. Hudec et [al.] // J. Agric. Food Chem. – 2009. – Vol. 57, № 5. – P. 2022–2029.
6. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and Their Antioxidant Capacity / X. Wu [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2004. – Vol. 52, № 26. – P. 7846–7856.
7. Zheng, W. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Blueberries, Cranberries, Chokeberries, and Lingonberries / W. Zheng, Sh.Y. Wang // J. Agric. Food Chem. – 2003. – Vol. 51, № 2. – P. 502–509.
8. Астахов, Ю.С. Новые возможности нейропротекции в комплексном лечении глаукомы препаратами растительного происхождения (по данным литературы) / Ю.С. Астахов, Ю.В. Скоробогатов // Офтальмология. – 2007. – Вып. 1. - С. 130–140.

ANTHOCYANINS COMPONENTS IN THE CHOKEBERRY(ARONIA MELANOCARPA (MICHX) ELLIOT) FROM SOUTH-WEST OF BELARUS
N.Y. Kolbas, A.P. Kolbas, N.M. Matusevich

Brest State University named after A.S. Pushkin, Brest, Republic of Belarus

The component composition and the total anthocyanins content in the fruits of wild chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) were analyzed. In this study the HPLC-MC-UV method was used. Cyanidin 3-O-galactoside is the dominant anthocyanin. The total anthocyanin content ranged from 58.17 ± 0.31 mg Cyanidin-glucoside per g dry weight. Research results can be used to develop nutrition supplements from fruits of the species studied, and to create a database for identification, standardization and authentication of raw plant materials and derived products.