

В. И. Дейнека, В. Н. Сорокопудов, Л. А. Дейнека, М. Ю. Третьяков

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦВЕТКОВ *TAGETES* SP. КАК ИСТОЧНИКА ЛЮТЕИНА

Белгородский государственный университет

Целью работы была оценка накопления ксантофиллов в цветках бархатцев, *Tagetes* sp., выращенных в условиях Белгорода. Были исследованы 3 вида: *T. erecta* (сорта Родос и Оранжевый снег), *T. patula* (Болеро и Гармония) и *T. tenuifolia* (Красный самоцвет). Общее содержание ксантофиллов определяли спектрофотометрически, а видовой состав диэфиров лютеина для лепестков всех исследованных сортов бархатцев и антоцианов в цветках с бордовыми пятнами был исследован методом обращено-фазовой ВЭЖХ. Установлено, что суммарное накопление ксантофиллов в цветках и их видовой состав соответствуют литературным данным для растений, выращенных в других регионах мира. Показано, что при сушке лепестков цветков сохранность ксантофиллов превышает 90 %, и содержание диэфиров лютеина в сухом материале может превышать 15 мг/г.

Биологическая активность β -каротина хорошо известна и определяет большой интерес к поиску источников этого важнейшего соединения или методов его синтеза [1]. Среди природных каротиноидов имеются вещества, биологическая роль которых не ограничивается провитаминной активностью. Например, особый интерес в последние годы уделяется лютеину, нехватка которого (наряду с зеаксантином) отвечает за возрастную потерю зрения [2]. В качестве источника лютеина во многих странах мира выращивают бархатцы (*Tagetes* sp.), лепестки цветков которых содержат в основном диэфиры лютеина [3–7]. На основе ксантофиллов этого растения созданы концентраты для использования в относительно новом направлении — пищевом дизайне, например, для производства куриных яиц, обогащенных ксантофиллами [4, 7, 8]. Это заметно усилило интерес к бархатцам, как лекарственным растениям, которые издавна использовались для приготовления напитков, приправ и настоек, антивирусная активность вторичных метаболитов которых подтверждена экспериментально [9].

Целью настоящей работы была оценка потенциальной возможности использования цветков бархатцев, выращенных в условиях Белгорода, для создания препаратов на основе лютеина.

Экспериментальная часть

Бархатцы были выращены на территории ботанического сада Белгородского государственного университета. Свежие цветки растений исследовались через 1–2 ч после сбора. Для сушки лепестки цветков помещали в шкаф без прямого доступа солнечного света.

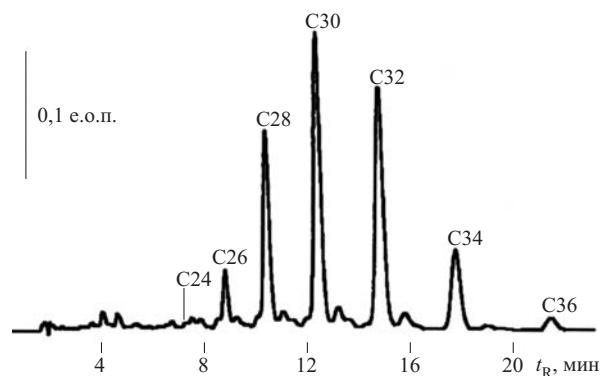
Количественное определение ксантофиллов (в пересчете на лютеин) производили спектрофотометрическим методом (спектрофотометр КФК-3-01) по поглощению света при длине волны (λ_{\max}) 435 нм ацетонового экстракта с использованием $E_{1\text{см}}^{1\%} = 2550$ [10].

Экстракция ксантофиллов. Навеску образцов (примерно 0,2 г свежих лепестков или 0,050 г сухих) растирали с кварцевым песком, смесь переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл; добавляли

примерно 75 мл ацетона и встряхивали в защищенном от прямого доступа света месте в течение 30 мин. Затем объем раствора доводили ацетоном до метки, раствор ксантофиллов отделяли фильтрованием, при необходимости разбавляли ацетоном и определяли оптическую плотность экстракта. Установлено, что повторная экстракция, как правило, не требовалась — степень извлечения ксантофиллов превышала 99 %, в то время как разброс содержания ксантофиллов в параллельных партиях лепестков превышал 5–10 %.

Экстракцию антоцианов выполняли аналогично с использованием в качестве экстрагента водного раствора HClO_4 (pH = 0,5–1,0). Содержание антоцианов приводили в пересчете на цианидина-3-глюкозид по оптической плотности при (λ_{\max}) 510 нм с использованием $\epsilon = 26900$ [11]. Качественный состав антоцианового комплекса определяли как в работах [12, 13].

Для исследования каротиноидного состава экстрактов цветков бархатцев использовали хроматографическую систему, составленную из насоса Altex 110A, крана дозатора Rheodyne 7100 с петлей объемом 20 мкл, детектора Spectromonitor LC/9563 ($\lambda = 435$ нм) и интегратора Shimadzu C-R3A. Хроматографические условия: колонка 250 × 4 мм, Кромасил C18, 5 мкм;



Разделение диэфиров ксантофиллов ацетонового экстракта цветков *Tagetes*. Колонка: 250 × 4 мм, Кромасил C18, 5 мкм. Подвижная фаза: 10 об. % ацетонитрила в ацетоне, 1 мл/мин. Детектор: 435 нм. Над пиками — суммарное число атомов углерода в кислотных радикалах.

Содержание ксантофиллов в лепестках цветков *Tagetes*

Вид	Сорт	Цвет	Содержание в пересчете на лютеин, мг на 1 г (0,25 – 0,40).			
			Дата сбора цветов			
			11.07	28.07	29.09	06.10
<i>T. erecta</i>	Родос	оранжевый	5,24	3,95	2,70	2,330
	Оранжевый снег	оранжевый	2,05	2,09	3,15	–
<i>T. patula</i>	Болеро	оранжево-красный	1,84	1,47	1,66	–
		оранжевый	2,74	3,06	1,79	–
<i>T. tenuifolia</i>	Гармония	оранжевый	2,36	1,77	1,44	–
	Красный самоцвет	оранжево-красный	–	1,72	–	–

подвижная фаза ацетонитрил — ацетон (10:90 об.):1 мл/мин.

Результаты и их обсуждение

В предварительных исследованиях, выполненных в 2004 г., было установлено, что наибольшее накопление ксантофиллов характерно для цветков оранжевой и оранжевой с бордовыми пятнами окрасок (*T. patula*). Содержание каротиноидов (в пересчете на лютеин) превышало 5 мг на 1 г свежих лепестков против менее 1 мг для цветов желтой и порядка 0,2 мг — лимонно-желтой окрасок. По этой причине в 2005 году особое внимание было уделено цветкам оранжевых тонов. Из различных видов *Tagetes* были исследованы три: *T. erecta* (сорта Родос и Оранжевый снег), *T. patula* (Болеро и Гармония) и *T. tenuifolia* (Красный самоцвет).

Результаты исследований, выполненных на свежих лепестках цветков, выращенных 2005 г., представлены

в табл. 1. Содержание ксантофиллов в целом оказалось заметно меньше, чем в 2004 г., хотя сортовая принадлежность образцов в предварительных исследованиях не была известна за исключением принадлежности некоторых из них к *T. patula*. Для цветов растений этого вида снижение содержания ксантофиллов составило 25 – 50 %. Возможно, что уменьшение продуктивности растений (по ксантофиллам) связано с неблагоприятными погодными условиями текущего года. Однако предпочтение сортам с оранжевой окраской принципиально оказалось правильным; для цветков желтой окраски выборочные исследования показали заметно меньшее содержание ксантофиллов — менее 1 мг на 1 г. Отметим, что принципиальных отличий между составом ксантофиллов исследованных сортов трех видов бархатцев не обнаружено. В 2005 г. цветки с бордовыми пятнами в сопоставлении с цветами чисто оранжевой окраски накапливали примерно

Таблица 2

Определение содержания ксантофиллов в высушенных лепестках цветков бархатцев

Сорт	№	Содержание ксантофиллов (в пересчете на лютеин), мг на 1 г											
		на влажную массу			на сухую массу								
		X_i	Среднее	Стандартное отклонение	X_i	Среднее	Стандартное отклонение						
"Родос" (от 06.10)	Свежие	1	2,47	2,33	0,19	—							
		2	2,43										
		3	2,27										
		4	2,05										
		5	2,42										
		6	2,56										
		7	2,14										
	Сушеные	1	2,20	2,18	0,10	11,4	11,0	0,47					
		2	2,35			11,3							
		3	2,10			10,7							
		4	2,15			10,3							
		5	2,10			11,2							
						2,70					17,0		
		Оранжевый снег				2,97					13,9		
Болеро (оранжевый)		1,74			10,2								
Болеро (оранжево-красный)		1,46			8,73								
Гармония (оранжевый)		1,50			8,60								
Гармония (оранжево-красный)		2,10			12,9								

на 25 % меньше ксантофиллов, чего не было обнаружено в 2004 г.

Использованный в работе состав подвижной фазы 10 об. % ацетонитрила в ацетоне позволяет разделять все основные диэферы лютеина, на долю которых приходилось более 85 % суммарной площади пиков на хроматограмме (рисунок) и содержащиеся в экстракте примеси (диэферы зеаксантина и др.). Анализ недериватизированных жирных кислот продуктов омыления экстрактов с использованием ВЭЖХ [14] показал, что основными кислотами образовавшихся эфиров являются миристиновая и пальмитиновая (около 85 – 90 % от суммы радикалов кислот), в меньших количествах содержатся радикалы стеариновой и лауриновой кислот. Отметим, что идентификация диэфиров лютеина не вызывает затруднений, поскольку инкрементная разность [14] между удерживанием последовательных диэфиров одинакова от лаурата-миристата до наиболее липофильного (элюирующегося последним) эфира — дистеарата лютеина. Содержание дилаурата во всех исследованных случаях было относительно небольшим: этот эфир может быть обнаружен в группе сопутствующих примесей с использованием инкрементной разности для данной хроматографической системы.

В цветках с бордовыми пятнами найдено высокое содержание антоцианов. По хроматографическим данным основной антоциан ряда образцов — цианидина-3-глюкозид, а в некоторых образцах конкуренцию (от 10 до 50 %) ему составляет еще одно производное цианидина (в продуктах гидролиза обнаруживается только цианидин). По хроматографическому поведению это производное идентично цианидину-3-глюкозиду, ацилированному малоновой кислотой, — одному из основных (в зависимости от окраски) компоненту пигментов другого растения сем. *Compositae* — *Callistephus chinensis* L. [12]. Содержание антоцианов в цветках бордовой окраски почти такое же, как в плодах *Ribes nigrum* L. — около 150 мг на 100 г свежих лепестков.

Для технологических целей принципиальна стандартизация исходного материала, которая может быть достигнута сушкой лепестков на предварительной стадии. По этой причине нами была исследована сохранность ксантофиллов при сушке. Для этого вначале исследовали содержание ксантофиллов в исходных лепестках, затем известные навески лепестков высушивали

при комнатной температуре без доступа прямого солнечного света. Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что потери ксантофиллов не превышают 5 – 10 % даже при сушке и хранении в течение 3 – 4 недель без принятия особых мер предосторожности (например, при доступе рассеянного света). При этом содержание ксантофиллов в воздушно-сухих образцах может превышать 15 мг на 1 г сырья. Это важно, поскольку омыление диэфиров с целью получения незтерифицированных ксантофиллов неизбежно будет сопровождаться потерями [5], но эта стадия, возможно, и не обязательна, поскольку известно, что диэферы ксантофиллов могут омыляться непосредственно в организме человека [15].

Таким образом, в работе установлено, цветки бархатцев, выращенные в условиях Белгорода, являются перспективным источником получения ксантофиллов.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Березовский, *Химия витаминов*, Пищевая промышленность, Москва (1973), сс. 187 – 201.
2. M. Mozaffarich, S. Sacu, and A. Wedrich, *Nutr. J.*, **2**, 20 – 27(2003)
3. T. L. Bosma, J. M. Dole, and N. O. Maness, *Crop. Sci.*, **43**, 2118 – 2124 (2003).
4. W. L. Hadden, R. H. Watkins, L. W. Levy, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 4189 – 4194 (1999).
5. E. Barzana, D. Rubio, R. I. Santamaria, et al. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4491 – 4496 (2002).
6. J. D. L. Rivas, *J. Chromatogr.*, **464**, 442 – 447 (1989).
7. E. Santos-Bocanegra, X. Ospina-Osorio, and E. O. Oviedo-Rondón, *Int. J. Poultry Sci.*, **3**, 685 – 689 (2004).
8. J. Jacob, R. Miles, *Facksheet PS-51*, (2000) <http://edis.ifas.ufl.edu>.
9. J. A. Soul, in: *New corp.*, J. Janick and J. E. Simon (eds.), Wiley, New York (1993), pp. 649 – 654.
10. D. B. Rodrigues-Amaya, *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*, ILSI Press, Washington (2001), p. 15.
11. M. M. Giusti, R. E. Wrolstad, in: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Unit F2.2, S. King, M. Gates and L. Scallietar (eds.), John Wiley and Sons, New York (2000).
12. В. И. Дейнека, А. М. Григорьев, *Ж. аналит. химии*, **59**(3), 305 – 309 (2004).
13. V. I. Deineka, V. N. Sorokopudov, L. A. Deineka, et al., *Chem. Nat. Comp.*, **41**(2), 162 – 164 (2005).
14. В. И. Дейнека, В. М. Староверов, Г. М. Фофанов, Л. Н. Балютинская, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(7), 44 – 47 (2002).
15. P. E. Bowen, S. M. Herbst-Espinosa, E. A. Hussain, and M. Stacewicz-Sapuntzakis, *J. Nutr.*, **132**, 3668 – 3673 (2002).

Поступила 13.12.05

FLOWERS OF *TAGETES* SPECIES AS A SOURCE OF XANTHOPHYLLS

V. I. Deineka, V. N. Sorokopudov, L. A. Deineka, and M. J. Tret'yakov

Belgorod State University, Belgorod, Russia

The accumulation of xanthophylls in flowers of *Tagetes* species cultivated under conditions of Belgorod region has been studied. Three species were investigated, including *T. erecta* ("Rhodes" and "Orange Snow" varieties), *T. patula* ("Bolero" and "Harmony" varieties) and *T. tenuifolia* ("Red Gem"). The overall xanthophyll content has been determined spectrophotometrically, while lutein diesters composition in all *Tagetes* species under investigation as well as anthocyanine composition in flowers with red spots have been studied by RP-HPLC. It is established, that the total content of xanthophylls and their composition are close to the published data for the analogous plants grown in other regions of the world. It is shown that more than 90% of xanthophylls in flowers are retained upon drying and the contents of lutein diesters in a dry material can exceed 15 mg/g.