

УДК 543.544.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2024.3.8

КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРОТИНОВ В ТЫКВЕ СОРТА «МАТИЛЬДА» МЕТОДАМИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ И ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© Ю. Ю. Гайнуллина*, И. А. Савенкова

Уфимский университет науки и технологий
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

*Email: umashkova@mail.ru

В данной работе методами спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии установлено, что отечественный сорт тыквы «Матильда» содержит в своем составе такие каротины, как β -каротин, α -каротин и ликопин. Определено, что наибольшее суммарное содержание каротинов доминирует в мякоти исследуемого сорта. Обнаружено, что α -каротин содержится только в мякоти, в кожуре отсутствует. Показано, что из двух предлагаемых систем растворителей, наилучшее разделение имеет система: диэтиловый эфир-петролейный эфир (3:1).

Ключевые слова: ликопин, каротины, сорт «Матильда», экстрагент, подвижная фаза.

Введение

Каротиноиды – природные органические пигменты от желтого до красного цвета. В отличие от других пигментов, молекулы каротиноидов не содержат металлов. Состоят только из углерода, водорода и кислорода. Их способность «взаимодействовать» с квантами света определяется системой сопряженных двойных связей между атомами углерода, выстроенными в цепочку. Чем больше в молекуле сопряженных двойных связей, тем больше длина волны поглощаемого света, что свидетельствует об изменении окраски пигмента. Каротиноиды поглощают свет с длиной волны 280–550 нм – это зеленая, синяя, фиолетовая, ультрафиолетовая области спектра.

Каротиноиды играют очень важную роль в процессе фотосинтеза. Они выполняют три основные функции: фотозащитную (защищают уязвимые компоненты фотосистем от светового «перевозбуждения»), светособирающую (что позволяет растениям использовать энергию света в синей области спектра – задача, с которой хлорофилл не может справиться без помощи каротиноидов) и структурную (служат необходимыми структурными элементами фотосистем) [1].

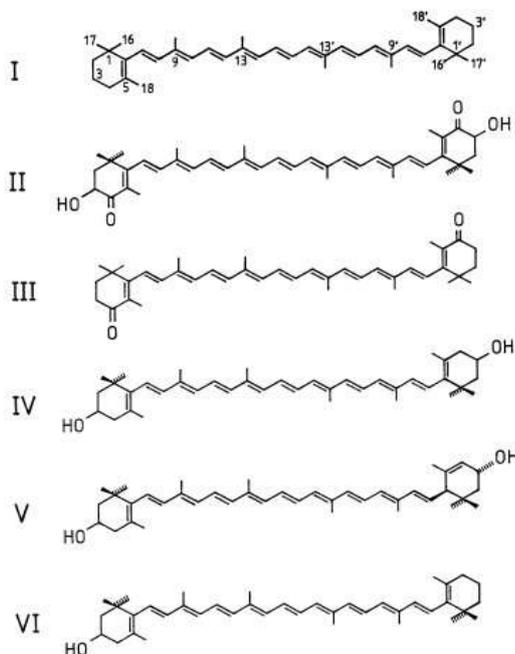


Рис. 1. Структурные формулы некоторых каротиноидов. I – бета-каротин, II – астаксантин, III – кантаксантин, IV – зеаксантин, V – лютеин, VI – бета-криптоксантин [1].

Каротиноиды обуславливают окраску некоторых цветков, плодов, корней, а также осенней листвы растений. Каротиноиды, получаемые животными с пищей, окрашивают покровы многих видов рыб, птиц, насекомых, ракообразных. Каротиноиды в наибольшем количестве содержатся в корнеплодах моркови,

листьях петрушки, шпината, плодах облепихи и тыквы. Однако функции каротиноидов в живой природе не ограничиваются работой со светом. Они играют важную роль в жизнедеятельности человека. Многим известно, что в случае заболевания глаз (пигментный ретинит, гемералопия, ксерофтальмия, кератомалация), заболевания и поражения кожи (ожоги, раны, псориаз, некоторые формы экземы и другие воспалительные процессы) назначают витамин А – производное β -каротина. Последний входит в состав каротиноидов. Витамин А и β -каротин являются средствами профилактики и лечения раковых заболеваний, в частности препятствуя повторному появлению опухоли после операций.

Антиоксидантное действие β -каротина играет важную роль в предотвращении заболеваний сердца. Обладает защитным действием у больных стенокардией, а также повышает содержание в крови «полезного» холестерина (ЛПВП). Лютеин и зеаксантин – главные каротиноиды. Они защищают наши глаза: способствуют предупреждению катаракты, а также снижают риск дегенерации желтого пятна (важнейшего органа зрения), которая является причиной слепоты в каждом третьем случае [2–4].

Каротиноиды – группа биологически активных веществ (БАВ). В последнее время она является особо популярной у нутрициологов и тех, кто ведет здоровый образ жизни. Основными источниками природных каротиноидов в питании человека являются свежие овощи, ягоды и зелень. Их количество варьируется в широких пределах в зависимости от вида овощей. Важными и ценными источниками каротиноидов являются: томаты (ликопин), морковь (β -каротин), тыква (β -каротин и лютеин). В связи с этим исследование каротиноидного состава продуктов питания является актуальной задачей.

В работе [5] авторами было установлено, что в большинстве плодов и ягод преобладает β -каротин независимо от их окраски, который может маскироваться антоцианами (боярышник, рябина, вишня, шиповник, черника) или хлорофиллом (зеленые яблоки). Наибольшее количество каротиноидов содержат облепиха, шиповник, морошка. Среди плодовых овощей томаты являются источником ликопина (86%), сладкий и острый красные перцы – капсантина (70%) и оранжевые перцы – зеаксантина (85%).

Авторами работ [6–7] установлено, что в зависимости от окраски моркови содержание каротиноидов изменяется и может составлять, мг/кг: желтая – 2–6; оранжевая – 98; темно-оранжевая – 160; красная – 73; фиолетово-желтая – 92; фиолетово-оранжевая – 40. Существуют желтые и красные разновидности, которые богаты лютеином и ликопином соответственно.

Обнаружено [8–10], что в плодах томата ликопин распределяется неравномерно, его концентрация в кожице выше, чем в других тканях томатов, особенно в стадии полного созревания. Соотношение ликопин в кожуре/ликопин в мякоти колеблется от 1.20 до 3.47 [8–10].

Плоды перца, включая сладкие и острые сорта, также представляют интерес как источник каротиноидов. Максимальное их количество накапливают оранжевые сорта. В красных сортах их количество в 4–5 раз меньше, а в белых – в 10 раз меньше [11]. Каротиноиды красного перца представлены в основном капсантином (70%) и капсорубином (10%). β -каротин и β -криптоксантин составляют не более 20%. В оранжевых сортах перца преобладает зеаксантин (до 85%), затем лютеин (до 16%), β -каротин, β -криптоксантин, антероксантин не превышают 1–2% каждый, а капсантин и капсорубин не обнаружены. В белых сортах перца преобладает лютеин (до 70%). В белом болгарском перце также преобладает лютеин, но с меньшей долей (44.6%) [12–13].

Экспериментальная часть

Род тыквы в мире включает более 30 видов. В России широко распространены 3 вида: твердокорая, мускатная и крупноплодная.

Объекты исследования. В качестве объектов исследования выбран вид Мускатные (*Cucurbita moschata*) – сорт «Матильда».

Латинское название твердокорой тыквы – *Cucurbita pepo*. Название связано с тем, что тыква имеет толстую, одеревеневшую кожицу. Преимущество сортов твердокорой тыквы – раннее созревание. Размер плодов не очень большой, зато семечки самые вкусные.

Латинское название крупноплодной тыквы – *Cucurbita maxima*. Данный сорт славится самыми крупными, сладкими плодами. Сахаристость некоторых видов способна достигать 15%, что превышает показатель арбузов.

Латинское название мускатной тыквы – *Cucurbita Moschata*. Это один из наиболее теплолюбивых представителей рода. Последний в основном выращивают в районах с продолжительным летом. Садоводам средней полосы приходится пользоваться исключительно рассадным способом, а при похолодании укрывать посадки. В нашем случае для процесса выращивания такого сорта были использованы поликарбонатные теплицы.

Исходя из физико-химических свойств исследуемых видов тыкв, в качестве экстрагентов были выбраны гексан, хлороформ и ацетон. Для выделения каротиноидов применяли метод жидкостной экстракции со следующим соотношением – сырье: экстрагент – 1:5.

Пробоподготовка. Плод тыквы сорта «Матильда» промывали проточной водой, затем подсушивали, разрезали, разделяли мякоть и кожуру. Толщина срезаемой кожуры составила 2 мм.

Методика получения извлечения. Мякоть предварительно измельчали. Для того чтобы нейтрализовать органические кислоты, к смеси добавляли гидрокарбонат натрия. Образцы массой 5 000 г экстрагировали гексаном

порциями по 25 мл при постоянном помешивании при комнатной температуре в делительной воронке до обесцвечивания сырья. Колбы и воронки оборачивали фольгой, поскольку каротиноиды являются светочувствительными.

Исследование каротиноидного состава проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Для дополнительной идентификации биологически активных веществ (БАВ) использовали метод УФ-спектрометрии.

Методика спектрофотометрического анализа. По 1 мл гексанового извлечения помещали в мерные колбы объемом 25 мл.

Для полученных растворов регистрировали спектры поглощения на спектрометре КФК-600 в диапазоне от 250 до 740 нм в кюветках с толщиной 1 см. В качестве раствора сравнения использовали гексан.

Методика ТСХ анализа. ТСХ-анализ осуществляли с использованием хроматографических пластинок «Sorbfil». На линии старта последних наносили по 10 мкл гексанового извлечения и раствора стандартного β -каротина. Далее пластины сушили при комнатной температуре в течение 10 мин. После чего пластины помещали в хроматографические камеры с подвижной фазой.

Для того чтобы установить, какая подвижная фаза разделяет БАВ лучше, использовали несколько вариантов подвижных фаз: 1) система 1: диэтиловый эфир–петролейный эфир (3:1); 2) система 2: ацетон–гексан (1:10).

Как только фронт подвижной фазы поднимался на 15 см от линии фронта, то пластины вынимали из камеры, сушили при комнатной температуре.

Результаты и обсуждения

В табл. 1–2 приведены факторы удерживания каротинов в гексановом извлечении.

Таблица 1

Факторы удерживания идентифицируемых каротинов, извлеченных в гексане.
Система растворителей: диэтиловый эфир–петролейный эфир (3:1)

Сорт тыквы	Факторы удерживания идентифицируемых каротинов					
	β -каротин		α -каротин		ликопин	
	мякоть	кожура	мякоть	кожура	мякоть	кожура
Матильда	0/929	0/825	0/900	-	0/714	0/725

Таблица 2

Факторы удерживания идентифицируемых каротинов, извлеченных в гексане.
Система растворителей: ацетон–гексан (1:10)

Сорт тыквы	Факторы удерживания идентифицируемых каротинов					
	β -каротин		α -каротин		ликопин	
	мякоть	кожура	мякоть	кожура	мякоть	кожура
Матильда	0.994	0.940	-	-	0.745	0.827

Как видно из таблиц, система растворителей диэтиловый эфир–петролейный эфир (3:1) дала наибольшее разделение каротинов. Заметно, что α -каротин идентифицирован только в системе 1. Обнаружено, что данный каротин у изучаемого сорта присутствует только в мякоти. При этом обе системы растворителей разделили ликопин и β -каротин. Содержание ликопина в мякоти и кожуре отличается незначительно. Однако разделение β -каротина в системе 1 показало, что в мякоти его содержится больше, чем в кожуре.

На рис. 2 представлены кривые светопоглощения. На данной кривой видно, что для мякоти и кожуры максимумы пиков соответствуют тем каротинам, которые были разделены методом тонкослойной хроматографии.

Вторая часть исследования заключалась в проведении оценки влияния температуры на каротиноидный состав. Методом спектрофотометрии установлено, что последний меняется незначительно (рис. 2).

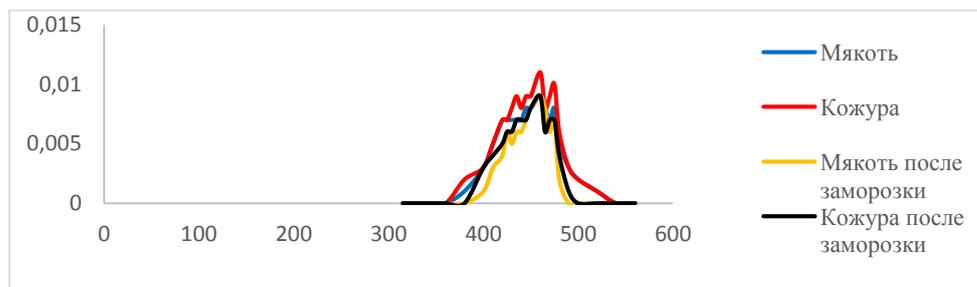


Рис. 2. Кривые светопоглощения сорта «Матильда».

Заключение

Таким образом, установлено, что отечественный сорт тыквы «Матильда» имеет в своем составе каротины. Это свидетельствует о том, что данный сорт может выступать сырьем для извлечения каротинов. Все части плода исследуемого сорта (кожура и мякоть) могут быть использованы для выделения каротинов и приготовления биологически активных добавок в пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ладыгин В. Г., Ширшикова Г. Н. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот // Журнал общей химии. 2006. Т. 67. №3. С. 163–189.
2. Гудвин Т. Сравнительная биохимия каротиноидов / пер. с англ. М., 1954.
3. Кретович В. Л. Основы биохимии растений. 5-е изд. М., 1971.
4. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов, / пер. с англ. М.: Мир, 1986. С. 315–422.
5. Нилова Л. П., Потороко И. Ю. Каротиноиды в растительных пищевых системах // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2021. Т. 9. №4. С. 54–69.
6. Pace B. Evaluation of quality, phenolic and carotenoid composition of fresh-cut purple Polignano carrots stored in modified atmosphere / B. Pace, I. Capotorta, M. Cefola, P. Minasi, N. Montemurro, V. Carbone // Journal of Food Composition and Analysis. 2020. Vol. 86. 103363. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103363>
7. Gajewski M. Some aspects of nutritive and biological value of carrot cultivars with orange, yellow, and purple colored roots / M. Gajewski, P. Szymczak, K. Elkner, A. Dabrowska, A. Kret, H. Danilcenko // Veg Crop Res Bull. 2007. Vol. 61. P. 67–149.
8. Li H. Ultra-performance liquid chromatographic separation of geometric isomers of carotenoids and antioxidant activities of 20 tomato cultivars and breeding lines / H. Li, Z. Deng, R. Liu, S. Loewen, R. Tsao // Food Chemistry. 2012. Vol. 132. P. 508–517. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.10.017.
9. Choi S. H. Protein, free amino acid, phenolic, β -carotene, and lycopene content, and antioxidative and cancer cell inhibitory effects of 12 greenhouse-grown commercial cherry tomato varieties / S. H. Choi, D.-S. Kim, N. Kozukue, H.-Je. Kim, Yo. Nishitani, M. Mizuno, C. E. Levin, M. Friedman // Journal of Food Composition and Analysis. 2014. Vol. 34. P. 115–127. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2014.03.005>
10. Georgiadou E. C. Tissue-specific elucidation of lycopene metabolism in commercial tomato fruit cultivars during ripening / E. C. Georgiadou, Ch. Antoniou, I. Majak, V. Goulas, P. Filippou, B. Smolińska, Jo. Leszczyńska, V. Fotopoulos // Scientia Horticulturae. 2021. Vol. 284. 110144. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110144>
11. Hassan N. M. Carotenoids of Capsicum fruits: pigment profile and health-promoting functional attributes / N. M. Hassan, N. A. Yusof, A. F. Yahaya, N. N. Mohd Rozali, R. Othman // Antioxidants (Basel). 2019. Vol. 8. P. 469. DOI: 10.3390/antiox8100469.
12. Zhang Zh. Microstructure and bioaccessibility of different carotenoid species as affected by hot air drying: Study on carrot, sweet potato, yellow bell pepper and broccoli / Zh. Zhang, Qi. Wei, M. Nie, N. Jiang, Ch. Liu, Ch. Liu, D. Li, L. Xu // LWT – Food Science and Technology. 2018. Vol. 96. P. 357–363. URL: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.061>
13. Hermanns A. S. Carotenoid Pigment Accumulation in Horticultural Plants / A. S. Hermanns, X. Zhou, Q. Xu, Ya. Tadmor, L. Li // Horticultural Plant Journal. 2020. Vol. 6(6). P. 343–360. URL: <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2020.10.002>

Поступила в редакцию 12.06.2024 г.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2024.3.8

**QUALITATIVE DETERMINATION OF CAROTENES IN MATILDA VARIETY PUMPKIN
USING SPECTROPHOTOMETRY AND THIN LAYER CHROMATOGRAPHY**

© **Yu. Yu. Gainullina***, **I. A Savenkova**

*Ufa University of Science and Technology
32 Zaki Validi st., 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

**Email: umashkova@mail.ru*

In this work, using spectrophotometry and thin-layer chromatography, it was established that the domestic pumpkin variety “Matilda” contains such carotenes as: β -carotene, α -carotene and lycopene. It was determined that α -carotene is present only in the pulp and is absent in the peel. It was shown that of the two proposed solvent systems, the best separation is achieved by the system: diethyl ether–petroleum ether (3:1).

Keywords: lycopene, carotenes, “Matilda” variety, extractant, mobile phase.

Received 12.06.2024.