

УДК 635.49:581.175.11

СОДЕРЖАНИЕ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ АВТОТРОФНОЙ И ГЕТЕРОТРОФНОЙ ТКАНИ ЛИСТЬЕВ АМАРАНТА ВИДА *A. TRICOLOR* L.

Гинс М.С.^{1,2} – доктор биол. наук, профессор, зав. лабораторией интродукции, физиологии и биохимии и биотехнологии функциональных продуктов, профессор агробиотехнологического департамента

Пивоваров В.Ф.¹ – доктор с.-х. наук, академик РАН, директор

Гинс В.К.¹ – доктор биол. наук, профессор, главный н.с. лаборатории интродукции, физиологии и биохимии и биотехнологии функциональных продуктов

Байков А.А.¹ – старший н.с. лаборатории интродукции, физиологии и биохимии и биотехнологии функциональных продуктов

Платонова С.Ю.² – аспирант агробиотехнологического департамента

Гинс Е.М.² – студент агробиотехнологического департамента

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур» (ФГБНУ ВНИИССОК)

143080, Россия, Московская обл., Одинцовский р-н, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д.14

E-mails: anirr@bk.ru, physiolo@inbox.ru

²ФГАОУ ВО «Российский государственный университет дружбы народов (РУДН)»

117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

В настоящее время получены многочисленные доказательства позитивной роли антиоксидантов в защитных реакциях, способных защитить от окислительного стресса не только растения, но и человека. Известно, что природные красящие вещества листьев, цветков и плодов – растительные пигменты проявляют высокую антиоксидантную активность. Удобной моделью для сравнительного изучения процессов формирования пигментного состава в гетерогенных тканях листа, различающихся по способности к фотосинтезу, являются растения амаранта вида *A. tricolor* L. сорта *Early Splendor*. В качестве стандарта служили листья амаранта вышеуказанного вида сорта *Валентина*. Целью работы является сравнительное исследование содержания пигментов: амарантина, хлорофиллов а и б, каротиноидов в стеблевых листьях амаранта сорта *Валентина* и *Early Splendor*, а также в красной и зеленой зонах верхушечных листьев последнего. Анализ водного экстракта красных верхушечных листьев амаранта *Early Splendor* показал наличие бетацианинового пигмента амарантина, в спектре поглощения которого обнаружен пик в зеленой области при длине волны 540 нм. Помимо антиоксиданта амарантина в экстракте содержатся антиоксиданты, вероятно, гликозиды фенольных соединений и аскорбиновая кислота, суммарное содержание которых почти в 2 раза меньше по сравнению со стеблевыми листьями амаранта этого сорта. Спиртовой экстракт красных листьев окрашен в желтый цвет. Его спектры поглощения имели в синей области пики при 445 нм и 472 нм и плечо при 422 нм, что указывает на присутствие бетаксантина, беталамовой кислоты или каротиноидов. В стеблевых листьях изученных видов обнаружены водорастворимые антиоксиданты – амарантин и аскорбиновая кислота, содержание которых в листьях сорта *Валентина* превышало их количество в листьях сорта *Early Splendor*, в то время как в листьях последнего было обнаружено максимальное количество фотосинтезирующих пигментов. Полученные данные свидетельствуют о том, что амарант как перспективный источник красящих пигментов с антиоксидантной активностью может использоваться для получения пищевых красителей.

Ключевые слова: *A. tricolor* L., амарант, амарантин, пигменты, антиоксиданты.

В настоящее время получены многочисленные доказательства позитивной роли антиоксидантов в защитных реакциях, способных защитить от окислительного стресса не только растения, но и человека [1,2]. Антиоксидантная терапия, существенно уменьшая риск развития многих заболе-

ваний, тесно связана с использованием растительной пищи, которая служит основным и самым доступным источником антиоксидантов для человека. Известно, что природные красящие вещества листьев, цветков и плодов – растительные пигменты проявляют высокую антиоксидантную активность [3].

Листья растений овощной культуры амарант вида *A. tricolor* L. отличаются разнообразной окраской, обусловленной содержанием и соотношением пигментов красной, зеленой и желтой окраски. Основная функция растительных пигментов состоит в поглощении энергии света. При этом

защитное действие пигментов красной (бетацианиновой) и желтой (каротиноидной) окраски от избыточной солнечной радиации обусловлено их антиоксидантными свойствами [4,5].

В листьях зеленоокрашенных растений амаранта поглощение света в синей области спектра обеспечивают каротиноидные пигменты (каротины, ксантофиллы), тогда как в красноокрашенных листьях амаранта, дополнительно к фотосинтетическим пигментам содержится красный пигмент амарантин, который поглощает свет в зеленой области спектра [6].

Удобной моделью для изучения процессов формирования пигментного состава в разноокрашенных тканях листа, различающихся по способности к фотосинтезу, являются растения амаранта вида *A. tricolor* L. сорта Early Splendor. На стебле этого растения образуются зеленые листья с фиолетовым оттенком, тогда как на верхушке стебля у растения, заканчивающего рост, последовательно появляются молодые красные листья, образующие яркоокрашенное «соцветие». В процессе вегетации растения в красноокрашенных листьях «соцветия» с кончика листа появляется зеленая зона, площадь которой постепенно увеличивается и заменяет полностью красную зону листа. Следовательно, верхушечные красные листья превращаются со временем в зелено-фиолетовые, аналогично листьям, которые сформировались ранее на стебле этого растения.

Листья, формирующиеся на стебле растения амаранта сорта Валентина, взятого в качестве стандарта, окрашены в красно-свекольный цвет [7]. Ранее нами было показано, что семядольные листья проростков этого сорта способны синтезировать амарантин в темноте. Ткань семядольных листьев, развивающихся за счет метаболитов семени, является акцепторной, в отличие от фототрофной ткани листьев амаранта образованных на свету за счет фотосинтеза [6]. Поэтому изучение физио-

логических механизмов регуляции закладки этих тканей и развития фотосинтезирующей (донорной) и гетеротрофной (акцепторной) зон является актуальным.

Изучение факторов, влияющих на образование амарантина и фотосинтетических пигментов в фототрофной и акцепторной тканях листьев амаранта, представляет интерес не только теоретический, но и практический, связанный с обеспечением безопасности и защищенности отечественных продуктов от импорта сырьевых ингредиентов путем разработки новых технологий получения природных красителей. Листья растений амаранта сорта Валентина в качестве сырьевого источника используются для получения пищевых красителей и разнообразных биологически активных добавок (БАД) к пище, обладающих высокой пищевой и биологической ценностью. Листовая масса амаранта может служить возобновляемым сырьем для производства натуральных красителей, альтернативным красителям, получаемым из сырьевых источников продовольственного назначения (моркови, свеклы столовой и др.) [8,9,10].

Целью работы является сравнительное исследование содержания пигментов: амарантина, хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов в стеблевых листьях сортов Валентина и Early Splendor, а также в красной и зеленой зоне верхушечных листьев последнего.

Материалы и методы

Материалом исследования служили стеблевые листья амаранта вида *A. tricolor* L. сорт Early Splendor и красные верхушечные листья последнего, а также растения сорта Валентина, которые обладают красно-фиолетовыми листьями равномерной окраски. Растения выращивали в защищенном грунте при естественной радиации (ВНИИССОК, Московская область).

Суммарное содержание антиоксидантов (ССА) определяли амперомет-

рическим методом [11], результат выражали в эквивалентах галловой кислоты – мг. экв. ГК/г. Измельчение образцов проводили в присутствии определенного объема экстрагирующей жидкости (бидистиллированная вода, 96% этиловый спирт) на гомогенизаторе при температуре 20...25°C. Далее гомогенат центрифугировали при 10000 g 15 мин при 4°C. Аликвоту супернатанта использовали для определения содержания антиоксидантов, при необходимости разбавляя. Измерения проводили на приборе «Цвет-Яуза-01-АА» в постоянно-токовом режиме [12].

Содержание восстановленной формы аскорбиновой кислоты (АК) определяли йодометрическим методом, основанном на титровании аскорбиновой кислоты в окрашенных экстрактах йодатом калия в кислой среде в присутствии йодистого калия и крахмала [13].

Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрическим методом. Содержание хлорофиллов *a* и *b* (Хл *a* и Хл *b*), общее содержание каротиноидов (Кар)

$$\begin{aligned} \text{Хл } a \left[\frac{\text{мг}}{\text{г}} \right] &= \frac{(13,36A_{664,2} - 5,19A_{648,6}) \cdot V}{1000 \cdot m} \\ \text{Хл } b \left[\frac{\text{мг}}{\text{г}} \right] &= \frac{(27,43A_{648,6} - 8,12A_{664,2}) \cdot V}{1000 \cdot m} \\ \text{Кар}^x \left[\frac{\text{мг}}{\text{г}} \right] &= \frac{(4,785A_{470} + 3,657A_{664,2} - 12,76A_{648,6}) \cdot V}{1000 \cdot m} \end{aligned}$$

рассчитывали по формулам [14]:

где A_{470} , $A_{648,6}$ и $A_{664,2}$ – поглощение на 470 нм, 648,6 нм и 664,2 нм соответственно, толщина кюветы 1 см. V – объем экстрагента (этанола 96%) в мл, m – масса навески образца в г.

Количество амарантина в водных экстрактах определяли с учетом молярного коэффициента экстинкции $5,66 \cdot 10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ и молярного веса $726,6 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$ [6].

Результаты и их обсуждение

Сравнительное изучение водных экстрактов листьев амаранта сортов Early Splendor и Валентина выявило

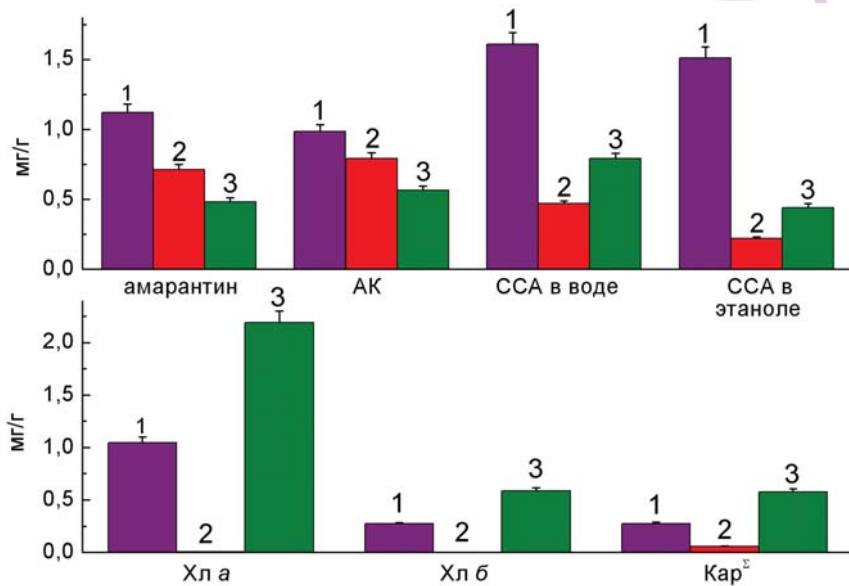


Рис. 1. Содержание пигментов и антиоксидантов в листьях амаранта вида *A. tricolor L.* (1 – стеблевые листья сорта Валентина, 2 – красные листья соцветия сорта Early Splendor и 3 – стеблевые листья сорта Early Splendor). Приведенные данные представляют среднее значение \pm стандартная ошибка ($n=5$).

максимальное накопление красного пигмента амарантина в листьях сорта Валентина (рис. 1). Водный экстракт, полученный из верхушечных красных листьев амаранта сорта Early Splendor содержал на 37% меньше амарантина, чем экстракт листьев Валентины, а содержание амарантина в стеблевых листьях сорта Early Splendor было на 32% меньше, чем в верхушечных.

Изучение суммарного содержания

антиоксидантов в листьях амаранта исследуемых сортов выявило большее их количество в водном экстракте красных верхушечных листьев сорта Early Splendor по сравнению со спиртовым экстрактом этих листьев, который содержал в два раза меньше антиоксидантов (рис. 1). Стеблевые листья растений вышеуказанного сорта в водном экстракте также содержали большее суммарное коли-

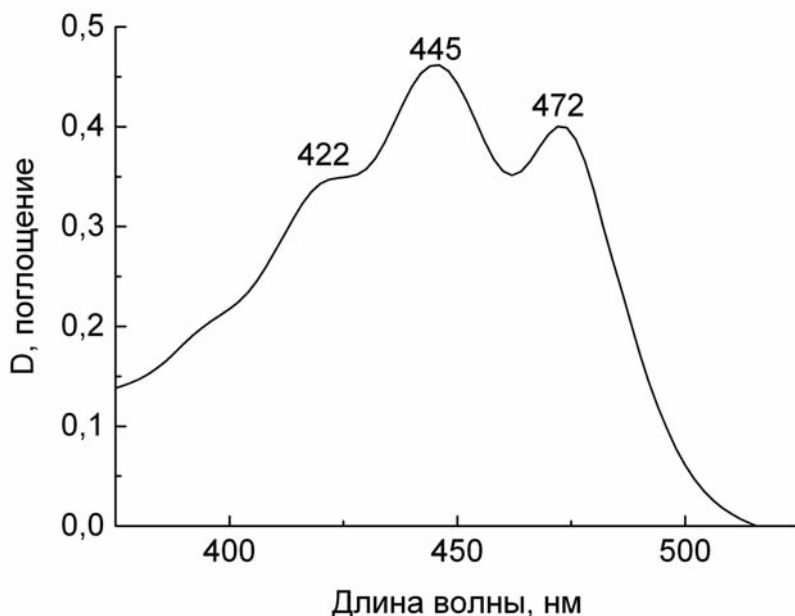


Рис. 2. Спектр поглощения спиртового экстракта красных листьев соцветия амаранта Early Splendor

чество антиоксидантов по сравнению со спиртовым экстрактом. В то же время как водный, так и спиртовой экстракты, полученные из листьев растений сорта Валентина, содержали практически одинаковое количество антиоксидантов. Интересно отметить, что содержание аскорбиновой кислоты коррелировало с содержанием амарантина в исследуемых образцах.

Анализ содержания фотосинтетических пигментов в спиртовых экстрактах листьев изученных сортов выявил минимальное содержание хлорофиллов в верхушечных красных листьях Early Splendor, которое было на два порядка меньше по сравнению со стеблевыми листьями этого сорта (рис. 1). По-видимому, это указывает на отсутствие эффективного фотосинтеза в этих практически бесхлорофилльных листьях.

Поскольку со временем молекулы хлорофиллов появляются в красных листьях «соцветия» Early Splendor последовательно с кончика листьев в виде зеленой зоны, которая со временем начинает расширяться, и листовая пластина полностью приобретает зеленый цвет, то можно предположить, что структуры порфирина (предшественника хлорофиллов), в красных листьях есть, а с появлением ферментов происходит синтез фотосинтетических пигментов.

Следует отметить, что в листьях амаранта сорта Валентина обнаружено в 2 раза меньше хлорофилла, по сравнению со стеблевыми листьями сорта Early Splendor. Однако при выдерживании выкопанных растений на свету во влажной почве наблюдали более быстрое разрушение хлорофиллов в листьях последнего.

В верхушечных красных листьях амаранта Early Splendor обнаружено минимальное содержание каротиноидов, которое было на порядок меньше по сравнению со стеблевыми листьями этого растения. Листья сорта Валентина также отличались меньшим накоплением каротиноидов (по

сравнению со стеблевыми листьями Early Splendor примерно в два раза). Спиртовой экстракт красных листьев соцветия был ярко-желтого цвета. Он имел пики поглощения в синей области спектра при длинах волн 445 и 472 нм и плечо при 422 нм. По-видимому, спиртовой экстракт красной ткани листьев может содержать (помимо бетакаротинов) бетаксантины и беталамовую кислоту [15], что является предметом дальнейшего изучения (рис. 2).

Следует отметить, что в верхушеч-

ных красных листьях Early Splendor, в которых появилась зеленая зона, начиная с кончика листовой пластинки, можно наблюдать переходную зону желтого цвета, расположенную между красной и зеленой зоной. Для таких листьев характерно наличие функционально разнородных тканей, различающихся по способности к фотосинтезу.

У сорта амаранта Early Splendor на верхушке стебля с течением времени формируется «соцветие» из листьев с различным соотношением красной и

зеленой зон. Раскрывшийся ювенильный лист «соцветия» имеет бледно-красную окраску, которая со временем становится более яркой, а на кончике появляется полоской зеленая зона. Относительное расположение красной и зеленой зон меняется со временем (зеленая зона постепенно вытесняет красную полностью, поэтому в листьях соотношение площадей этих зон меняется). Соотношение площадей зеленой и красной зоны в листьях постоянно изменяется от 100% : 0% (К/З) у полностью красных

Суммарное содержание антиоксидантов в образцах сортов Валентина и Early Splendor (среднее значение ± стандартная ошибка, n=5)

Сорт	Образец	X±ΔX, мг. экв. ГК / г	
Валентина	черешки	1,27±0,06	
	лист	3,51±0,18	
Early Splendor	черешки листьев соцветия	0,58±0,03	
	жилки зеленой части листьев соцветия	0,72±0,04	
	жилки красной части листьев соцветия	0,61±0,03	
	красная часть листа		
	лист соцветия 100% К : 0% З	1,21±0,06	
	лист соцветия 70% К : 30% З	0,92±0,05	
	лист соцветия 50% К : 50% З	1,09±0,05	
	лист соцветия 30% К : 70% З	1,06±0,05	
	зеленая часть листа		
	лист соцветия 70% К : 30% З	1,65±0,08	
	лист соцветия 50% К : 50% З	1,89±0,09	
	лист соцветия 30% К : 70% З	1,84±0,09	
	лист стебля 0% К : 100% З	1,47±0,07	

Литература

- Харченко В.А., Беспалько Л.В., Гинс В.К., Гинс М.С., Байков А.А. Монарда – ценный источник биологически активных соединений. //Овощи России. – 2015.– № 1 (26).– С.27-31.
- Гинс М.С., Харченко В.А., Гинс В.К., Байков А.А., Кононков П.Ф., Ушакова И.Т. Антиоксидантные характеристики зеленых и пряноароматических культур // Овощи России. – 2014. – №2. – С. 42-45.
- Гинс М.С., Гинс В.К., Пивоваров В.Ф., Кононков П.Ф. Биологически активные вещества с антиоксидантной активностью экстрактов красноокрашенных листьев амаранта // Российская сельскохозяйственная наука (Доклады

- Российской академии сельскохозяйственных наук).–2016. – № 5. – С. 17-20.
- Пивоваров В.Ф., Гинс В.К., Кононков П.Ф., Гинс М.С., Овощи и витамины и антиоксиданты // Наука в России. – 2004. – №6. –С. 42-51.
- Гинс М.С., Гинс В.К., Кононков П.Ф., Любичкий О.Б. Ильина С.Е. Возможные механизмы антиоксидантной активности бетацианинов амаранта // Вестник РАСХН. – 2005. – №4. – С. 50-53.
- Гинс М.С. Биологически активные вещества амаранта. Амарантин: свойства, механизмы действия и практическое использование // М. : РУДН. – 2002. – 176 с.
- Гинс В.К., Кононков П.Ф., Гинс М.С. Патент РФ №40509 от 22.05.2008. Амарант овощной Валентина.

листьев до 0% : 100% (К/З) - у полностью зеленых. Изменяющиеся соотношение площадей окрашенных зон в процессе роста листа, по-видимому, свидетельствует о разных скоростях изменения площади красной и зеленой зон. Вариабельность соотношения площадей зон в листе обусловлена, по-видимому, эндогенной регуляцией, при этом красная и зеленая зоны функционально разнородны: первая из них является акцепторной, а вторая – фотосинтезирующая донорная.

При сравнительном изучении содержания антиоксидантов в красной и зеленой зоне листьев соцветия, которые занимали 30, 50 и 70% площади листьев, обнаружены сравнимые величины уровня накопления антиоксидантов: в красной зоне – 0,92-1,09 мг. экв. ГК/г и в зеленой зоне – 1,65-1,89 мг. экв. ГК/г. При этом в зеленой зоне листа накапливалось большее количество антиоксидантов по сравнению с красноокрашенной. В жилках и черешках верху-

шечных красных листьях накапливалось в 2 раза меньшее количество антиоксидантов по сравнению с красными листьями сортообразца Early Splendor (табл.).

Выводы

1. В красных тканях верхушечных листьев Early Splendor обнаружены следующие пигменты: амарантин, ксантофиллы, следовые количества хлорофиллов а и б и каротиноидов.

2. Фотосинтетические пигменты в максимальном количестве накапливаются в стеблевых листьях сорта Early Splendor, тогда как в листьях сорта Валентина хлорофиллов а и б, каротиноидов аккумулируется в 2 раза меньше.

3. Обнаружено максимальное содержание амарантина в листьях сорта Валентина, несколько меньше в красных тканях верхушечных листьев сорта Early Splendor, которые могут служить потенциальными источниками красных пигментов для получения пищевых красителей.

PIGMENT CONTENT AND COMPOSITION IN AUTOTROPHIC AND HETEROTROPHIC LEAF TISSUES OF AMARANTH SPECIES A. TRICOLOR L.

Gins M.S.1,2, Pivovarov V.F.1, Gins V.K.1, Baikov A.A.1, Platonova S.Ju.2, Gins E.M.2

¹All-Russian Scientific Research Institute of Vegetable Breeding and Seed Production 14, Seleksionnaya st, VNISSOK, Odintsovo region, Moscow district, Russia, 143072 E-mails: anirr@bk.ru, physiol@inbox.ru
²Peoples' Friendship University of Russia 8/2, Miklukho-Maklaya st, Moscow, Russia, 117198

Summary

At present there is numerous evidence of the antioxidant positive role in the defensive reaction that is capable to protect not only plants, but also humans against oxidative stress. Plant pigments such as natural dyes from leaves, flowers and fruits are known to have high antioxidant activity. Amaranth species *A. tricolor* L. cultivar 'Early Splendor' is a convenient model for the comparative studying of the formation processes of differently colored pigment composition in leaf tissues that differs in the ability to photosynthesize. Leaves of amaranth cultivar 'Valentina' were as a standard. The aim of the experiment was a comparative studying of the pigments content: amarantine, chlorophyll a and b, carotenoids in the cauline leaves of amaranth cultivars 'Valentina' and 'Early Splendor', as well as in the red and green areas of the leaves. Analysis of the aqueous extract of red Early Splendor amaranth apical leaves showed the presence of betacyanin pigment - amarantine, in the absorption spectrum in which peak was seen in the green region at 540 nm. In addition to the antioxidant amarantine there are also antioxidants which might be phenolic glycosides, and ascorbic acid in the extract, the total content of which is almost twice as small as in the leaves of amaranth cauline of this cultivar. Yellow fraction was found in the ethanolic extract of red leaves. Its absorption spectrum had peaks in the blue region at 445 nm and 472 nm and a shoulder at 422 nm that indicated the presence of betaxanthin, betalamic acid or carotenoids. Water-soluble antioxidants - amarantine and ascorbic acid were found in cauline leaves of studied species. Their content in the leaves of Valentina cultivar was higher than in the leaves of cultivar 'Early Splendor', and the maximum level of photosynthetic pigments was found in 'Early Splendor' leaves. The obtained results showed that the amaranth is a promising source of pigments with the antioxidant activity that can be used for production of food dyes.

Keywords: *A. tricolor* L., amaranth, amarantine, pigments, antioxidants.



8. Гинс М.С., Гинс В.К., Пивоваров В.Ф., Торрес Миньо К.Х., Кононков П.Ф. Функциональные продукты питания из семян и листьев амаранта. /М. ВНИИССОК., 2015. – 95 с.

9. Гинс М.С., Лапо О.А. Обогащение чая черного байхового антиоксидантными веществами листьев амаранта // Овощи России. – 2014. – 2(23). – С. 37-39.

10. Гинс М.С., Торрес Миньо К.Х., Гинс Е.М. Изучение свойств красящего экстракта из соцветий и листьев амаранта и перспективы его использования // Овощи России. 2014. – № 4 (25). – С. 84-87.

11. Гинс М.С., Гинс В.К., Байков А.А., Рабинович А.М., Кононков П.Ф., Солнцев М.К. Содержание антиоксидантов в лекарственных и овощных растениях, проявляющих противоопухолевую активность // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – Т. 11. – № 2. – С. 010-015.

12. Гинс М.С., Гинс В.К., Кононков П.Ф., Байков А.А., Торрес М.К., Романова Е.В., Лапо О.А. Методика анализа суммарного содержания антиоксидантов в листовых и листостебельных овощных культурах. Учебно-методическое пособие. М.: РУДН. – 2013. – 40 с.

13. Сапожникова Е.В., Дорофеева Л.С. Определение содержания аскорбиновой кислоты в окрашенных растительных экстрактах йодометрическим методом // Консервная и овощесушильная промышленность. – 1966. – № 5. – С. 29-31.

14. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology. 1987. Vol. 148. P. 350–382

15. Biswas M., Dey S., Sen R. Betalains from *Amaranthus tricolor* L. // J Pharmacogn Phytochem 2013. 1(5):87–95.