



УДК 543.544

Каротиноиды и антоцианы листков околоцветников некоторых видов лилий (*Lilium* L.)

Дейнека В.И., Лабунская Н.А., Сорокопудова О.А.

Белгородский государственный университет, Белгород

Аннотация

Хроматографическими и спектрофотометрическими методами исследованы пигменты листочков околоцветников некоторых видов лилий. Установлено, что основные компоненты каротиноидного комплекса лилий с оранжевой и красной окраской – производные (диэфиры и моноэфиры) капсантина и капсорубина. Суммарное накопление ксантофиллов достигает 450 мкг/г для оранжевоцветковых сортов. Антоциановый комплекс красноцветковых сортов представлен в основном цианидином-3-рутинозидом с уровнем накопления 200 – 300 мг на 100 г исходного материала

Ключевые слова: пигменты лилий, хроматография, спектрофотометрия

Chromatographic and spectrophotometric methods were applied for investigation of colorants of some *Lilium* L. species flowers. The main xanthophylls constituents of red and orange species were found to be capsanthin and capsorubin mono- and diesters. Total xanthophylls accumulation reached 450 mcg per 1 g for orange species. The main component of the anthocyanin origin (of red species) was cyanidin-3-rutinoside with a level of accumulation up to 200 – 300 mg per 100 g.

Введение

Рынок цветочных срезочных растений в настоящее время предлагает потребителям множество растений, среди которых - азиатские и восточные гибриды лилий (*Lilium*), сорта *Lilium longiflorum* Thumb. (длинноцветковые гибриды), - вызывают усиливающийся интерес у производителей и потребителей благодаря красивым цветкам, разным срокам цветения и длительной декоративности в срезанном состоянии [1]. Поэтому биосинтез пигментов в цветках этих растений принимает уже не только научный интерес.

Известно, что окраска цветков лилий обусловлена накоплением в них каротиноидов и антоцианов. По схеме биосинтеза, предложенной в работе [1], в лепестках цветков лилий должны синтезироваться производные цианидина. В работе [2] в листочках околоцветника красноцветковой лилии найден в качестве основного пигмента цианидин-3-рутинозид, а также новое производное - цианидин-3-рутинозид-7-глюкозид. Кроме антоцианов в ряде случаев окраска лепестков связана и с накоплением каротиноидов [3], среди которых выделяют окисленные формы ксантофиллов – капсорубин, капсантин, антераксантин и др. [4, 5]. Высокое накопление этих ксантофиллов в цветках лилии карликовой (*Lilium pumilum* Delile)

позволило (см. www.lgberry.com.cn) разработать технологию экстракции пигментов сверхкритическим CO₂ для получения коммерческого концентрата с содержанием капсантина не менее 96%. Следовательно исследование накопления пигментов в цветках лилий в условиях Белгорода может иметь и технологическое назначение с свете современной тенденции к замене синтетических красителей природными.

В ботаническом саду Белгородского государственного университета собрана обширная коллекция лилий. Она насчитывает около 10 видов и 300 сортов Азиатских гибридов, LA-гибридов, LO-гибридов, Трубчатых гибридов российской и иностранной селекции согласно международной садовой классификации гибридных лилий.

Цель настоящей работы – определение уровня накопления и видового состава основных компонентов каротиноидного и антоцианового комплексов лепестков цветков лилий из коллекции ботанического сада БелГУ.

Материалы и методы исследования

В работе использована хроматографическая система, составленная из насоса Altex 110A, крана дозатора Rheodyne 7200 с петлей объемом 20 мкл. Хроматографические колонки: 4×250 мм, Диасфер-110-C18, 5 мкм, 4×250 мм, Кромасил-100-C18, 5 мкм защищенные предколоночным фильтром. Детектор – спектрофотометрический с варьируемой длиной волны (детектор Nicolet LC/9563). Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП МультиХром 1.5.

Для приготовления подвижных фаз использовали растворители: ацетон ч.д.а. ЗАО «Экос-1», ацетонитрил х.ч., ООО «ХромРесурс».

Свежие листочки околоцветников лилий экстрагировали ацетоном (несколько последовательных экстракций одного и того же образца) для извлечения ксантофиллов и 0.1 М раствором HCl в воде – для извлечения антоцианов.

Спектры пигментов записывали на спектрофотометре КФК-3-01. Количественное определение ксантофиллов и антоцианов выполняли спектрофотометрическим методом в ацетоновых экстрактах, используя $E_{1\text{см}}^{1\%} = 2300$ для капсантина и [6], и $\epsilon = 29600 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ цианидин-3-глюкозида в водном растворе при pH=1 [7].

Для разделения каротиноидов методом ТСХ использовали пластины с силикагелем «Сорбфил» и подвижную фазу *n*-гексан: ацетон 20:2 по объему.

Результаты исследования и обсуждение

Для исследования каротиноидного состава пигменты экстрагировали из свежих лепестков цветков ацетоном. При этом хроматограммы экстрактов цветков окраски от оранжевой до бордовой были очень похожими, рис.1.

Спектры этих экстрактов в видимой области электромагнитного спектра также были близкими, совпадавшими со спектром капсантина. Характер хроматограмм (наличие группы пиков с инкрементной разностью в две метиленовые группы [8]) свидетельствовал о том, что основными компонентами каротиноидного экстракта являются диэфиры капсантина. Диэфиры во всех случаях были образованы жирными кислотами от лауриновой до стеариновой; эти кислоты были найдены в гидролизате каротиноидного комплекса. Пики диэфиров дублируются

пиками их геометрических (*цис*-) изомеров, что подтверждается записью хроматограмм при длине волны 340 нм: в этом диапазоне у *цис*- изомеров имеется так называемый *цис*-пик [9] и их площадь (высота) возрастает относительно пика полностью *транс*-изомера. В диапазоне 3 - 5 мин элюируются в основном моноэфиры капсантина, а вблизи мертвого времени колонки – неэтерифицированные ксантофиллы (эти вещества получают при частичном омылении диэфирной фракции капсантина). После предварительного разделения экстракта методом тонкослойной хроматографии была выделена всегда присутствовавшая (розовые пятна на пластинах ТСХ) в меньшем по сравнению с капсантином количестве фракция диэфиров капсорубина, рис.2 и рис.3.

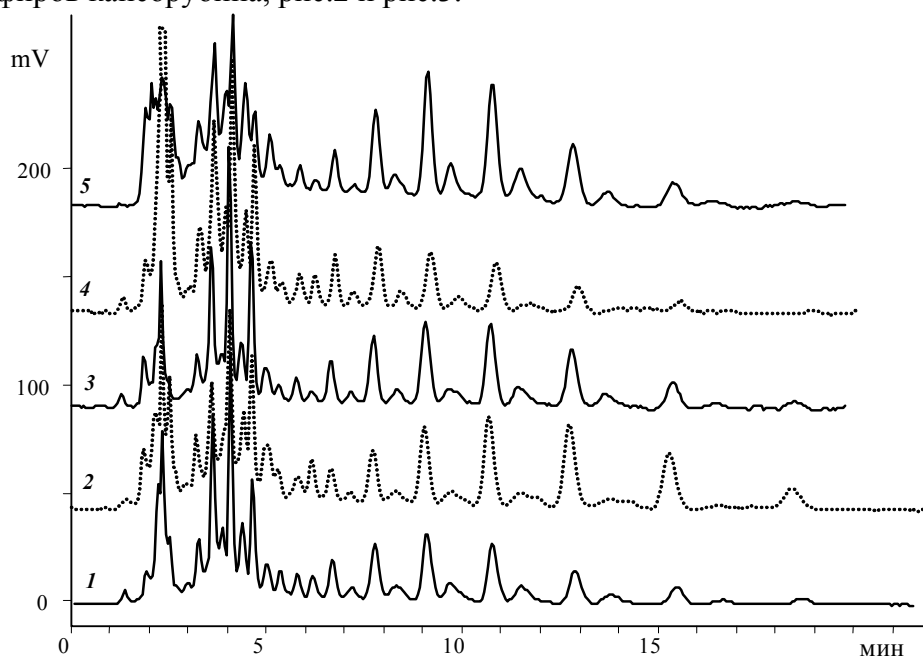


Рис.1. Хроматограммы ацетоновых экстрактов лепестков цветков некоторых сортов лилий

Сорта: 1 – Сибирячка, 2 - Люстра, 3 – Забава, 4 – Красная поздняя, 5 – Вилтигринум; хроматографическая колонка: 250×4 мм, Диасфер-110-С18, 5 мкм; элюент: 20 % ацетонитрила в ацетоне, 1 мл/мин. Детектор: 445 нм

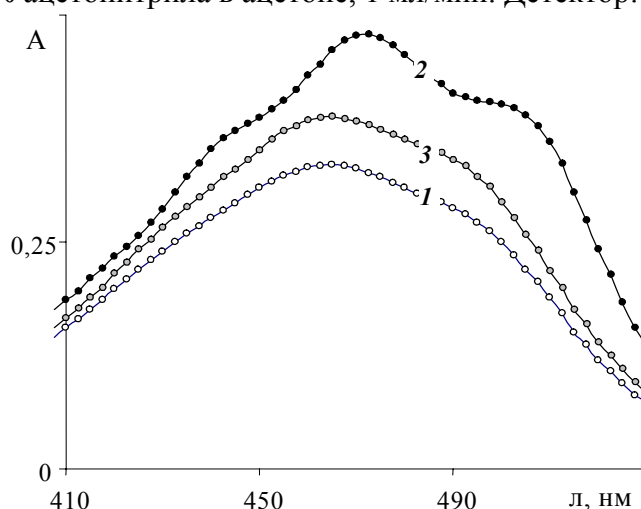


Рис.2. Спектры трех фракций ацетонового экстракта цветков лилий оранжевой окраски

1 – фракция диэфиров капсантина; 2 – фракция диэфиров капсорубина, 3 – фракция моноэфиров капсантина. Растворитель ацетон

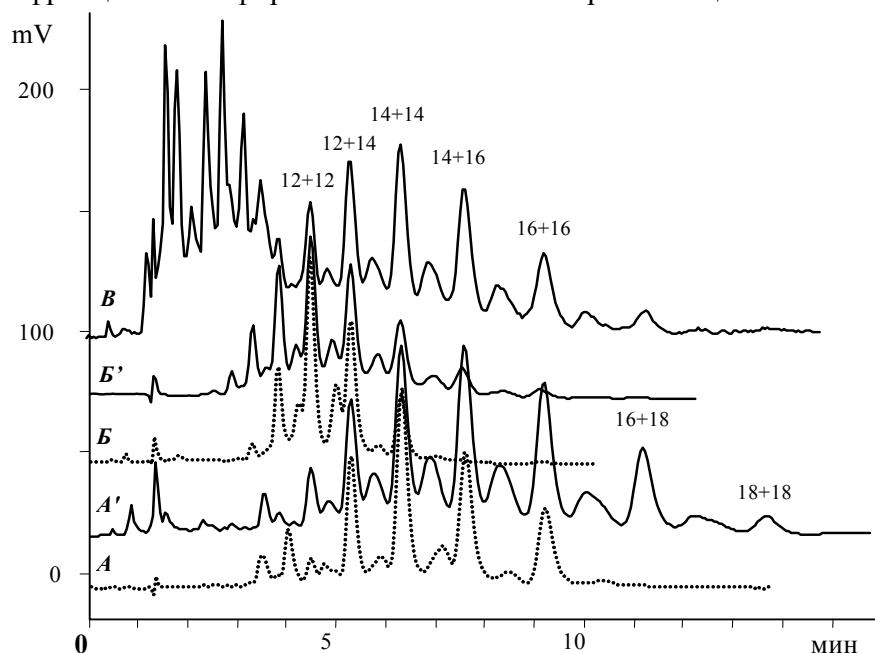


Рис.3. Хроматограммы каротиноидов

А – диэфиры капсантина экстракта плодов сладкого перца; А' – диэфиры капсантина экстракта цветков лилий; Б – диэфиры капсорубина экстракта плодов сладкого перца; А' – диэфиры капсорубина экстракта цветков лилий; В – экстракт лепестков лилии 'Мария'. Принцип обозначения диэфиров: 12+12 – дилаурат капсантина. Хроматографическая колонка: 150×4 мм, Диасфер-110-С18-NT; подвижная фаза: 25% ацетонитрила в ацетоне, 1 мл/мин. Длина волны детектирования 445 нм

На рис.3 сопоставлены фракции ксантофиллов, полученные из плодов перца сладкого (*Capsicum annuum*) красной окраски и лепестков цветков лилии сорта 'Мария'. Очевидно, что, во-первых, времена удерживания диэфиров капсорубина практически совпадают со временами удерживания диэфиров капсантина, но со смещением на два номера четных гомологов. Это объясняет невозможность отдельного определения производных капсантина и капсорубина в негидролизованном экстракте в выбранной хроматографической системе. Во-вторых, отличие ксантофиллов перца (также выделенных в индивидуальных фракциях методом ТСХ) от ксантофиллов лилий связано с различным набором кислот, этерифицирующих ксантофиллы – в экстрактах пигментов перцев диэфиры стеариновой кислоты практически не обнаруживаются на хроматограммах. Отметим, что степень этерификации ксантофиллов, оцененная по площадям групп соответствующих пиков, не зависела напрямую от окраски цветков, табл.1. Можно дополнить, что ксантофиллы лилии тигровой (*L. lancifolium* Thumb., оранжевая окраска) имели небольшую степень этерификации - меньше 40 %, как и ксантофиллы всех исследованных экстрактов лилий желтой окраски.

Таблица 1. Параметры этерификации ксантофиллов в цветках некоторых сортов лилий

№	Сорт	Окраска листочков околоцветника	Доля производных ксантофиллов, моль %			α^* , %
			диэфиры	моноэфиры	н/э	
1	Вашингтон	Оранж.	46.0	42.3	11.7	67.2
2	Вилтигринум	Оранж.	47.1	35.6	17.3	64.9
3	Сибирячка	Красн.	41.3	40.5	18.2	61.5
4	Красная поздняя	Красн.	25.5	43.4	31.2	47.1
5	Люстра	Красн.	47.9	34.8	17.2	65.3
6	Забава	Бордов.	52.3	37.9	9.9	71.2
7	Мгновение	Бордов.	9.0	49.3	41.7	33.7

* - степень этерификации

В целом по накоплению ксантофиллов исследованные цветы лилий уступали бархатцам [10]; появление антоцианов приводило к некоторому снижению уровня их накопления, табл.2.

Таблица 2. Накопление пигментов некоторых сортов лилий

	Сорт	Окраска листочков околоцветника	Срок цветения	Содержание ксантофил- лов*, мкг/г	Доля эфиров (диэфиров / моноэфиров)	Содержание антоцианов**, мг/100 г
ЛА-гибрид						
1	Вашингтон	Оранжевая	Средн.	84.4	46.0 / 42.3	н/о
АЗ – гибриды						
2	Вилтигринум	Оранжевая	Средн.	358	47.1 / 35.6	н/о
3	Сибирячка	Красная	Средн.	311	41.3 / 40.5	82.4
4	Красная поздняя	Красная с крапом	Поздн.	193	25.5 / 43.4	87,3
5	Люстра	Красная	Средн.	212	47.9 / 34.8	99.6
6	Забава	Бордовая	Средн.	163	52.3 / 37.9	297.8
7	Мгновение	Бордовая	Средн.	129	9.0 / 49.3	207.5

* - в пересчете на капсантин; ** - в пересчете на цианидин-3-глюкозид; н/о – не определяли.

Известно, что лилии желтой окраски накапливают меньше ксантофиллов по сравнению с лилиями оранжевой окраски [3], как и в случае перцев, метаболизм β -каротина останавливается на β -криптоксантине или зеаксантине. В исследованных в данной работе листочках околоцветников лилий желтой окраски (ЛА-гибрид, сорт

'Ройял Дилайт' и трубчатый гибрид) найден более сложный состав моноэфирной фракции при небольшой степени этерификации, но технологического значения (с целью выделения пигментов) такие сорта лилий не могут иметь. Из оранжево- и красноцветковых сортов исследованных в работе лилий наивысшее содержание ксантофиллов было найдено в цветках лилии Буша (*Lilium buschianum* Lodd.) - 1,28 мг/г свежих лепестков.

Подкисленными водными растворами из листочков околоцветников от красной до бордовой окрасок экстрагируются антоцианы, причем этот комплекс оказался простым – основным компонентом во всех исследованных случаях был цианидин-3-рутинозид. Отметим, что экстракция антоцианов после экстракции каротиноидов ацетоном невозможна вследствие разрушения антоцианов в ацетоновом растворе. На хроматограммах, как правило, обнаруживаются также небольшие пики сопутствующих цианидин-3-глюкозиду слабее удерживаемые примеси, рис.5.

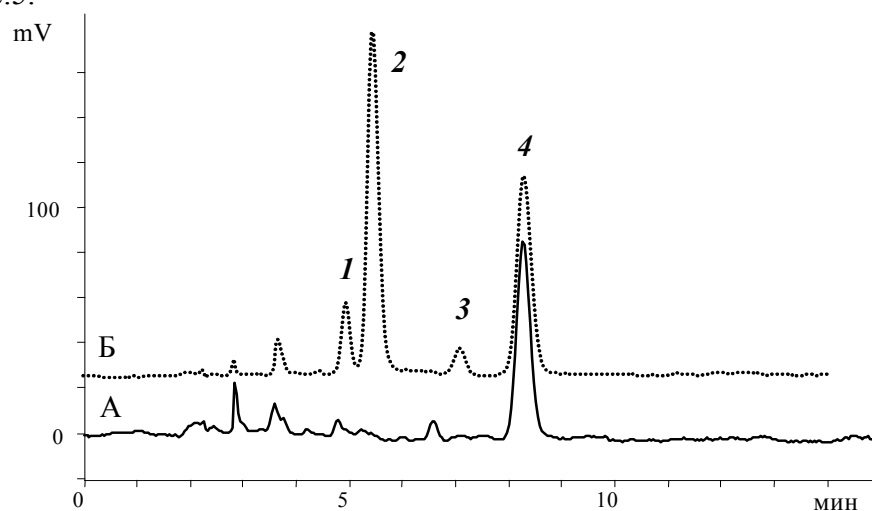


Рис.5. Хроматограммы антоциановых экстрактов

Экстракты: А – лилии 'Вишенка', Б – черной смородины. 1 – дельфинидин-3-глюкозид; 2 – дельфинидин-3-рутинозид; 3 – цианидин-3-глюкозид; 4 – цианидин-3-рутинозид. Хроматографическая колонка: 150×4 мм, Диасфер-110-С18; подвижная фаза: 10% муравьиной кислоты, 8% ацетонитрила, 1 мл/мин. Длина волны детектирования 510 нм

По концентрации антоцианов сорта лилий с бордовыми цветками сопоставимы с такими ягодами, как черная смородина [11], жимолость синеплодная, магония падуболистная [12].

Заключение

Таким образом, в сортах лилий с оранжевой (и красной) окраской цветков основные компоненты каротиноидного комплекса – эфиры капсантина (и капсорубина). Красные тона окрасок связаны с присутствием в лепестках в основном цианидин-3-рутинозида.

Список литературы

1. Martens S., Knott J., Seitz C.A., Janvari L., Yu S.-N., Forkmann G. Impact of biochemical pre-studies on specific metabolic engineering strategies of flavonoid biosynthesis in plant tissues // *Biochem. Eng. J.* 2003. v.14. P. 227–235
2. Nørbak R., Kondo T. Anthocyanins from flowers of *Lilium* (Liliaceae) // *Phytochem.* 1999. V.50(7). P. 1181-1184
3. Banba H. Pigments of lily flowers. II Survey of carotenoid // *Japan. Soc. Hortic. Sci.* 1968. v.37(4). P. 368-378
4. Valadon L.R.G., Mummery R.S. Carotenoids of lilies and of red pepper: biogenesis of capsanthin and capsorubin // *Z. Pflanzenphysiol.* 1976. v.82(5). P. 407-416
5. Deli J., Molnár P., Matus Z., Tóth G., Steck A., Pfander H. Isolation and characterization of 3,5,6-trihydroxy-carotenoids from petals of *Lilium tigrinum* // *Chromatographia.* 1998. v.48. P. 27-31
6. Uquiche E., del Valle J.M., Ortiz J. Supercritical carbon dioxide extraction of red pepper (*Capsicum annum* L.) oleoresin // *J. Food Engin.* 2004. v.65(1). P. 55-66
7. Kosar M., Bozan B., Temelli F., Baser K.H.C. Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts // *Food Chem.* 2007. v.103. P. 952-959
8. Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Инкрементный подход в анализе каротиноидов методом ОФ ВЭЖХ. Разделение диэфиров ксантофиллов // *Сорбц. и хроматограф. процессы.* 2006. Т.6. №3. С. 366-375
9. Rodriguez-Amaya D.R. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington. ISLI Press. 2001. 64 p.
10. Дейнека В.И., Сорокопудов В.Н., Дейнека Л.А., Третьяков М.Ю. Исследование цветков *Tagetes* sp. как источника лютеина // *Хим.-фарм. ж.* 2007. т.41. №10. С. 30-32
11. Дейнека В.И., Григорьев А.М., Староверов В.М., Сиротин А.А. Основные антоцианы некоторых растений семейства Grossulariaceae // *Химия природн. соедин.* 2003. №4. С. 324-325.
12. Сорокопудов В.Н., Хлебников В.А., Дейнека В.И. Опыт интродукции магонии падуболистной и перспективы ее использования // *Вестник РАСХН.* 2006. №3. С. 35-36.