

**Сравнительный анализ качественно-количественного состава
флавоноидов бузины чёрной сорта «Augea» и смородины черной сорта
«Селеченская-2»**

Смирнов И.В.

*9 класс, МОУ СОШ им. А.С. Попова городского округа Власиха
Московской области*

*Научный руководитель: Швыркин С.Н., МОУ СОШ им. А.С. Попова городского
округа Власиха Московской области*

Введение. Антоцианы, относящиеся к группе природных флавоноидов, имеют важное значение при использовании их как пищевых красителей, в медицине как биологически активные добавки, как органические солнечные батареи из-за их способности преобразовывать энергию солнечного света в электрическую энергию. Изучение накопления антоцианов разными растениями также позволяет исследовать процессы фотозащиты у растений в процессах перемещения азота.

Цель работы – изучить качественно-количественный состав флавоноидных соединений природного характера в плодах бузины чёрной сорта «Augea» и смородины черной сорта «Селеченская-2».

Задачи: собрать образцы плодов растений данных видов и сортов; провести экстракцию флавоноидов 1% раствором соляной кислоты; провести разделение флавоноидных окрашенных соединений на хроматографической колонке с использованием в качестве сорбента смеси кварцевого песка с оксидом алюминия с использованием в качестве элюента 1% раствора NaOH; провести определение количества видов окрашенных флавоноидов и их отдельный сбор в емкости по объёму вытекаемого элюента; провести определение общего количества антоцианов в плодах исследуемых растений; провести сравнительный анализ насыщенности антоцианами плодов исследуемых растений и их разнообразия.

Гипотеза: ягоды бузины черной и смородины черной богаты антоцианами. Число видов антоцианов и их разнообразие наиболее велико в плодах бузины чёрной.

Обзор литературы. Антоцианы – кристаллические вещества, легко растворимые в воде, растворах щелочей, трудно – в спирте, бензоле. [1]. Имеются

данные, что основные источники антоцианов – темноокрашенные плоды, среди которых ягоды бузины, рябины черноплодной, граната и черники – лидеры по содержанию этих соединений [4]. В то же время содержание антоцианов в черной смородине в среднем колеблется в пределах 180 – 250 мг/100г [2]. По оценкам Česlová L. [3] плоды бузины черной после заморозки в целом содержат от 180 до 600 мг/100г продукта антоцианов в пересчете на цианидин-3-гликозид. Это соответствует среднему содержанию антоцианов в ягодах.

Методы исследования. Исследовали плоды бузины черной сорта «Aurea» (*Sambucus nigra*) и смородины черной сорта «Селеченская-2» (*Ribes nigrum*).

Плоды собирали с растений в культуре после их полного созревания (биологическая спелость). Хранили плоды в морозилке при -18°C.

Пробоподготовку проводили после естественного размораживания образцов, отвешивали навески на электронных весах (1г), измельчали в фарфоровой ступке пестиком с добавлением небольшого количества 1% соляной кислоты. Количественно переносили измельчённые навески для экстракции в колбы. Экстрагировали пигменты трехкратно по 20мл 1% раствора соляной кислоты до обесцвечивания растёртых образцов. Переносили экстракт в колбы на 100мл и разбавляли до метки 1% соляной кислотой.

Для колоночной хроматографии использовали стеклянную колонку диаметром 1см и длиной не менее 20см.

В качестве носителя использовался кварцевый песок с оксидом алюминия (Al_2O_3) в соотношении 10:1.

Элюент – 1% NaOH.

Техника промывания на хроматографической колонке: 20 мл экстракта помещали в колонку и промывали элюентом. По мере прохождения экстракта через носитель происходило разделение флавоноидов в виде колец (окрашенных зон). Каждое кольцо собиралось в отдельную пробирку. Число пробирок соответствовало числу индивидуальных флавоноидов. Среднее содержание антоцианов определяли на спектрофотометре.

Результаты и обсуждение. Наши определения антоцианов в пересчете на самый распространенный антоциан цианидин-3-глюкозид показали среднее содержание антоцианов в смородине сорта Селеченская-2 187мг/100г ягод, что соответствует среднему содержанию данных антиоксидантов.

Среднее содержание антоцианов в плодах бузины черной сорта Aurea по нашим оценкам составило 310мг/100г продукта. По оценкам Česlová L. (2023) плоды бузины черной после заморозки в целом содержат от 180 до 600 мг/100г продукта антоцианов в пересчете на цианидин-3-гликозид. Это соответствует среднему содержанию антоцианов в ягодах. Сравнительный анализ показал, что содержание антоцианов в ягодах черной бузины в 1,7 раза выше, чем в ягодах чёрной смородины.

Проводя колоночную разгонку смеси антоцианов чёрной смородины, мы смогли выделить 6 фракций. Колоночная хроматография не дает полного разделения химически разных антоцианов, близких по химической структуре, двигающиеся кольца сливаются. Решением данной проблемы может стать изменение носителя, который будет более избирательным по отношению к данной группе соединений или увеличение длины хроматографической колонки. Второй способ увеличит трек движения веществ и усилит их разделение. Вероятно, в шесть фракций попали наиболее распространённые в черной смородине антоцианы.

Разгон антоцианов экстракта ягод бузины черной показал наличие 4 основных фракций, которые могут соответствовать четырем наиболее распространённым антоцианам у этого вида: Cyanidine-3-sambubioside-5-glucoside (C-Samb-Glu); cyanidine-3,5-diglucoside (C-diGlu); cyanidine-3-sambubioside (C-Samb); cyanidine-3-glucoside (C-Glu).

Качественное сравнение антоцианов, встречающихся в образцах обеих ягод разных видов может быть выявлено лишь при использовании ВЭЖХ или методом бумажной хроматографии с метками свидетелями. Ввиду невозможности проведения данных видов анализа, мы не затрагивали качественное сравнение видов антоцианов, а ограничились только их численностью (либо численностью основных групп).

Исходя из литературных данных совпадения по качественному составу антоцианов у ягод бузины черной и смородины черной могут быть по содержанию цианидин-3-гликозида и цианидин-3,5-гликозида, как наиболее распространенных гликозидов в мире растений.

Выводы.

1. Плоды бузины черной сорта «Aurea» (*Sambucus nigra*) и смородины черной сорта «Селеченская-2» (*Ribes nigrum*) богаты антоцианами, при этом среднее содержание антоцианов в пересчете на цианидин-3-гликозид как минимум в 1,7 раза выше в плодах бузины черной по сравнению с плодами черной смородины.

2. Общее число групп антоцианов не может быть достоверно определено с текущими параметрами исследования: длина хроматографической колонки 20см, носитель кварцевый песок : окись алюминия = 10 : 1, элюент 1% NaOH

3. Среднее определенное нами число групп антоцианов (разнообразие) в плодах черной смородины больше, чем в плодах бузины черной.

Список литературы

1. Запрометов М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. – Москва: Наука, 1993.

2. Шимердова Б., Бобрикова М., Лхотская И., Каплан Й., Крженова А., Шатинский Д. Оценка содержания антоцианов в различных сортах черной смородины в течение трех лет с помощью метода быстрой ВЭЖХ-DAD. Foods. 2021.

3. Česlová L, Kalendová P, Dubnová L, Pernica M, Fischer J. The Effect of Sample Pretreatment on the Anthocyanin Content in Czech Wild Elderberry (*Sambucus nigra* L.). Molecules. 2023.

4. Ramos P.R., Herrera R., Moya-Leyn M.-A. Anthocyanins: food sources and benefits to consumer's health. In: Warner L.M. (Ed.). Handbook of Anthocyanins: Food Sources, Chemical Applications and Health Benefits (Biochemistry Research Trends). Hauppauge; New York: Nova Science Publishers, Inc., 2014.