

# БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

## ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ НАТУРАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

М.С. Гинс<sup>1,3</sup>, Е.К. Платонова<sup>2</sup>,  
С.Ю. Платонова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Агробиотехнологический департамент  
Российский университет дружбы народов  
*ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198*

<sup>2</sup>Кафедра иностранных языков  
Аграрно-технологический институт  
Российский университет дружбы народов  
*ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198*

<sup>3</sup>ФГБНУ ВНИИ селекции и семеноводства овощных культур  
*ул. Селекционная, 14, поселок ВНИИССОК, Одинцовский район,  
Московская область, Россия, 143080*

Исследованы физико-химические свойства и суммарная антиокислительная активность натуральных пищевых красителей из свеклы столовой, черной смородины и амаранта. Проведен сравнительный анализ по антиокислительной активности перспективной культуры для получения натурального красителя — опунции инжирной (*Opuntia ficus indica* L.), используемой в странах Африки, Азии, Латинской Америки, которая может быть интродуцирована в засушливые районы России, включая Республику Крым.

**Ключевые слова:** натуральные пищевые красители, амарант, свекла столовая, черная смородина, антиокислительная активность, пигмент амарантин, фенольные соединения, опунция инжирная.

В современном мире большим спросом пользуются продукты, полученные с применением биобезопасных, экологических технологий. При этом большое внимание уделяется внешнему виду продукта, который может окрашиваться без использования химических добавок и синтетических красителей.

Важным показателем качества пищевой продукции является антиокислительная активность, показывающая содержание антиоксидантов в пищевых продуктах, напитках, БАДах, которое, как правило, неизвестно. Поэтому измерение и контроль содержания антиоксидантов — актуальная аналитическая задача, имеющая

социально-здоровоохранительное значение. Для оценки антиокислительной активности используются различные тест-системы, например DPPH, FRAP, амперометрический метод определения суммарной антиокислительной активности [1; 5].

Одной из важных промышленных целей выращивания опунции инжирной (лат. *Opuntia ficus-indica* L.) в Марокко является получение натурального красителя.

Плод этого кактуса имеет особую питательную ценность благодаря тому, что он богат содержанием аскорбиновой кислоты, беталаиновых пигментов, фенольных соединений, минеральных солей, восстановителей сахаров. Сок, полученный из плодов, содержит от 0,22 до 0,25% индиоксантина и бетанина 0,027% (оранжево-желтые плоды) до 0,3% (пурпурный плод). Высокое содержание витамина С (40 мг/% в экстрактах) наблюдается в соцветиях [6]. В настоящее время кактус опунция инжирная произрастает на Филиппинских островах, в регионе Средиземноморья, а именно во Франции, Португалии, Италии; Тунисе, Эфиопии, Алжире, в Индии и Чили, на Мадагаскаре, активно используется в засушливых регионах [8]. Также из паразитирующих на ней организмов получают карминовый краситель.

**Цель работы.** Изучение суммарной антиокислительной активности беталаиновых пигментов в листьях амаранта Валентина и Дон Педро, корнеплодах столовой свеклы сорта Бордо 237. Сравнение содержания антиоксидантов различного состава по методике с использованием дифенилпикрилгидразила: антоциановых пигментов черной смородины, бетацианинов в плодах Опунции инжирной, рассмотренной также в качестве нового источника для получения натурального красителя.

**Объектами исследований** являлись экстракты из краснолистных форм амаранта (*Amaranthus* L.) сорт Валентина и Дон Педро, корнеплодов свеклы столовой (*Béta vulgaris*), экстракты, содержащие антоциановые пигменты из ягод ежевики и черной смородины.

Красно-фиолетовый алкалоид бетацианин, выделенный из краснолистных сортов амаранта Валентина и Дон Педро, получил название амарантин (рис. 1).

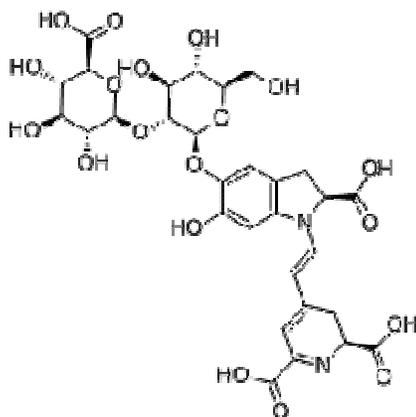


Рис. 1. Строение натурального красящего пигмента — алкалоида амарантина [4]

Свекольный красный бетанин (Beetroot Red, Betanin, E162), выделенный из столовой свеклы сорта Бордо 237 — красный краситель и пищевая добавка [3]. Пигмент свеклы столовой — бетанин и пигмент амаранта — амарантин имеют сходное строение.

Антоциановые красители (E-163) (энорасители, антоцианины) получают из кожицы винограда темных сортов, черной смородины, черной бузины, вишни, ежевики, черники, черноплодной рябины, сорго, шиповника и т.д. Бетацианины являются исключительно растительными пигментами — антиоксидантами и сходны с антоцианами по окраске [1; 3].

В некоторых странах тропиков для получения натуральных пищевых красителей кроме амаранта используются нетрадиционные растения, как например, опунция инжирная. В качестве объектов исследований были рассмотрены два пигмента в плодах опунции: желтый пигмент — индиоксантин, а другой — красно-фиолетовый — бетанин [6; 8].

**Материал и методы исследований.** Опыт проводился в 2014—2015 гг. на опытных полях и в лаборатории физиологии и биохимии растений ВНИИ селекции и семеноводства (Одинцовский р-н Московской области). В течение вегетационного периода проводили фенологические наблюдения, учет морфологических признаков, изучение биохимического состава вегетативной массы.

Содержание бетацианинов (в экстрактах из листьев амаранта, корнеплодов свеклы столовой) определяли по величине оптического поглощения на спектрофотометре, и выделение экстрактов проводили по методике определения содержания бетанина [4]. Исследования массовой доли антиоксидантов на измерительном комплексе «ЦветЯуза-01-АА», разработанном в ОАО НПО «Химвавтоматика». Содержание аскорбиновой кислоты — по методике Сапожникова и Дорофеевой [5].

Проведен сравнительный анализ интенсивности окрашивания бетацианинов в водных экстрактах из амаранта с экстрактами из корнеплодов столовой свеклы Бордо 237. Для опыта брали навеску 2 г сухих листьев амаранта сортов Валентина и Дон Педро, экстрагировали 20 мл 40% водно-спиртовым раствором. Во втором варианте экстракцию проводили 1% HCl + щавелевой кислотой. Корнеплоды столовой свеклы Бордо 237 для получения таких же экстрактов брали различные по массе. В сохранившихся экстрактах через месяц измеряли оптическое поглощение на спектрофотометре.

Плоды опунции инжирной желто-оранжевого и пурпурных оттенков, собранные в августе 2013 г. в регионе Шавия-Уардига (одна из шестнадцати областей Марокко), были вымыты и очищены [7]. Полученная мякоть была гомогенизирована, затем отфильтрована через сито для того, чтобы отделить семена и получить растительный экстракт.

Антирадикальная активность сложных экстрактов была оценена спектрофотометрическим методом в условиях *in vitro* с помощью DPPH теста с использованием DPPH радикала (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила) [6]. Для этого объемы экстрактов различного состава из плодов растений были инкубированы в растворе

метанола (40 мкг/мл), 0,1 М буферного раствора, значение рН которого = 5,5. Коэффициент поглощения измеряли на длине волны  $\lambda = 518$  нм через некоторые промежутки времени [8].

**Результаты исследований.** Самыми стойкими экстрактами, полученными из сухих листьев из амаранта, были Дон Педро в 1% HCl, амаранта Валентина в спирте и в 1% HCl, сухих листьев из амаранта в спирте. При первичном сравнении содержания выделенных пигментов в листьях сортов амаранта было выявлено, что количество амарантина в сорте Дон Педро превышало его содержание в 2,5 раза по сравнению с сортом Валентина (табл. 1). Поэтому, для получения большего количества амарантина также может использоваться сорт Дон Педро. Суммарное содержание антиоксидантов в сорте Валентина было выше (МДА = 1,5 мг/г), чем у сорта Дон Педро (МДА = 0,74 мг/г) [4; 5].

Таблица 1

**Содержание аскорбиновой кислоты, антиоксидантов и пигментов изучаемых культур**

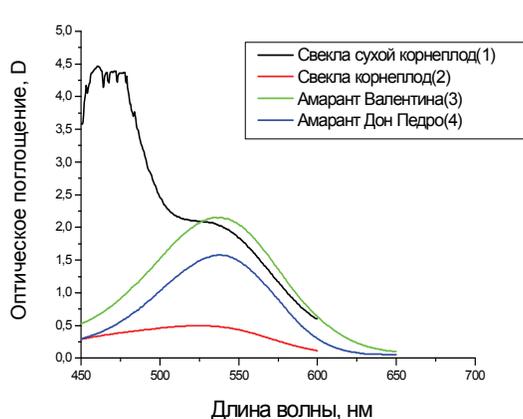
Объект	Орган	Аскорбиновая кислота, мг/%	Бетацанины, мг/100 г	Антиоксиданты, мг/г
Амарант Дон Педро	листья	126,72	163,14	0,74
Амарант Валентина	листья	132,56	64,45	1,52

На следующих двух графиках представлено содержание бетацанинов, определяемое величиной оптического поглощения в экстрактах из корнеплодов столовой свеклы сорт Бордо 237, листьев амаранта сортов Валентина и Дон Педро. Графики отражают результаты по устойчивости экстрактов после хранения при  $t 4^{\circ}\text{C}$  в течении месяца [4].

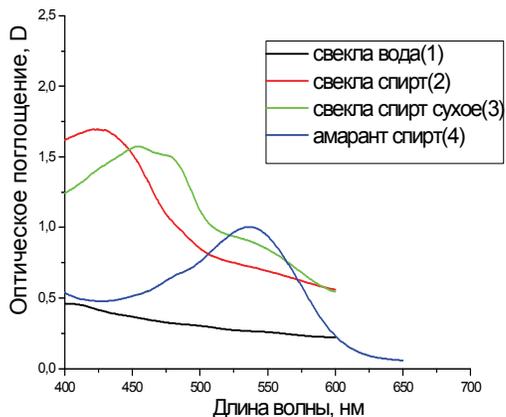
При сравнении содержания выделенных пигментов экстрактов в 1% HCl кислоте по устойчивости лидировал амарант сорт Валентина, а также высокие значения величины оптического поглощения при  $\lambda = 540$  нм были отмечены у экстракта из сухого корнеплода свеклы столовой (рис. 2).

Водно-спиртовые экстракты из листьев амаранта после хранения в течение месяца при  $4^{\circ}\text{C}$  имели четко выраженный пик при  $\lambda = 540$  нм в отличие от таких у свеклы столовой (рис. 3). При сравнении водно-спиртовых и кислотных экстрактов между собой (рис. 2 и рис. 3) важно отметить, что значения были больше в первом графике в кислотных экстрактах при более кислом рН. Водно-спиртовой экстракт из листьев амаранта сорта Валентина был устойчивее при хранении в течении месяца и более при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$  по сравнению с выделенным красным пигментом бетанином из свеклы столовой.

Таким образом, были отобраны различные экстракты из растений, выращиваемых в Нечерноземной зоне РФ, таких как амарант, сорт Валентина и Дон Педро, корнеплодов свеклы столовой сорта Бордо 237. Полученные растительные экстракты использовались в технологии создания натурального пищевого красителя [4].



**Рис. 2.** Устойчивость выделенных кислотных экстрактов



**Рис. 3.** Устойчивость выделенных водно-спиртовых экстрактов

**Антиокислительная активность беталаиновых пигментов, полученных из плодов опунции инжирной (*Opuntia ficus indica* L.)**

После получения экстракта из опунции инжирной и проведения биохимического анализа французскими исследователями результаты содержания пигментов, фенольных соединений и аскорбиновой кислоты двух изучаемых образцов занесли в табл. 2.

Таблица 2

**Содержание аскорбиновой кислоты, фенольных соединений и беталаиновых пигментов в экстрактах изучаемых плодов**

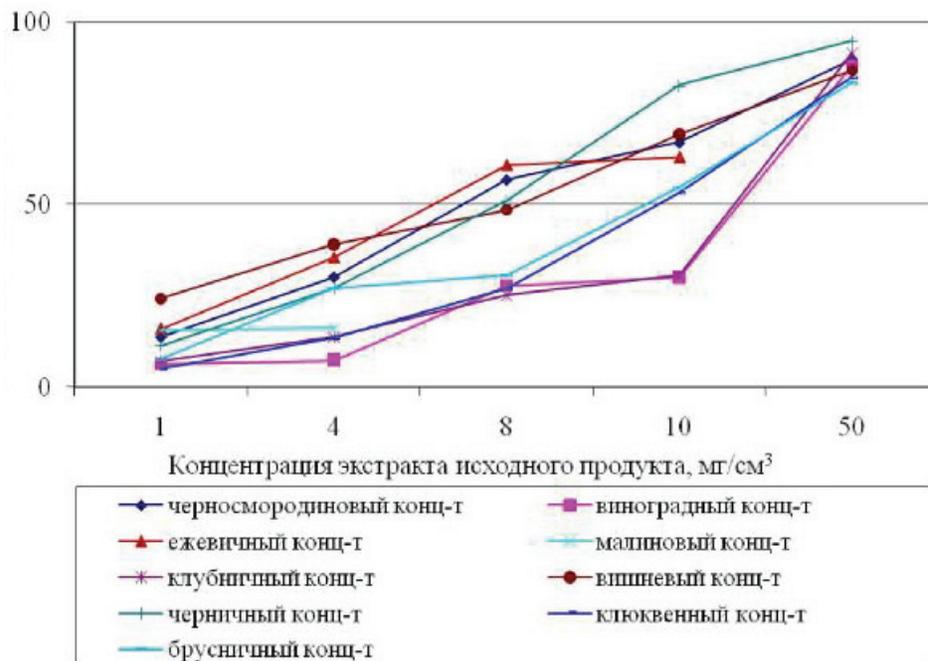
	Экстракт из желто-оранжевых плодов, мг/ %	Экстракт из пурпурных плодов, мг/ %
Аскорбиновая кислота	40 мг/ % ± 0,003	34 мг/ % ± 0,005
Фенольные соединения	20 мг/ % ± 0,001	28 мг/ % ± 0,001
Бетаксантин	245 мг/г ± 0,007	22 мг/г ± 0,001
Бетанин	27 мг/г ± 0,002	306 мг/г ± 0,002

Определение антиокислительной активности экстрактов, выделенных из различных плодов опунции инжирной, проводилось спектрофотометрическим методом с использованием спиртового раствора радикала DPPH [8]. Выделенный экстракт из плодов опунции инжирной содержал большое количество витамина С, фенольных соединений и беталаиновых пигментов. Экстракты, извлеченные из плодов пурпурного цвета, содержали большее количество аскорбиновой кислоты и антиоксидантов, чем экстракты из плодов желто-оранжевого цвета. Было отмечено, что значения суммарной антиокислительной активности значительно выше, чем показатели аскорбиновой кислоты, используемой в качестве контроля. Фенольные соединения имели антиокислительную активность в 1,2 раза выше, чем у Витамина С, а беталаиновые пигменты — в 1,5 раза [8]. Полученные результаты показывают, что из плодов опунции инжирной возможно получение экстрактов с высоким содержанием антиоксидантов.

**Антиокислительная активность экстрактов соков, выделенных из различных плодов содержащих пигменты антоцианы.** В результате статических испытаний, проведенных учеными Самарского университета, применяли также DPPH тестирование с использованием DPPH радикала (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила). Измерения были проведены с интервалом в 30 мин, и построены кривые зависимости % ингибирования радикалов DPPH от концентрации исходного антиоксиданта. Обработка полученных данных проводилась спектрофотометрическим методом при концентрации раствора 38 моль,  $\lambda = 517$  нм. Повторность опытов трех- и пятикратная, обработку экспериментальных данных проводили методами математической статистики [2].

Несмотря на то, что все экстракты обладают ярким цветом, уровень антоцианов у них очень разный. Черничный и виноградный экстракты обладали наивысшими значениями, а для остальных концентратов этот показатель в 2—10 раз ниже. Экстракты ежевичный, черной смородины, черничный имеют наивысшую антиоксидантную активность (рис. 4).

Поглощение радикалов DPPH, %



**Рис. 4.** Данные по определению антиокислительной активности экстрактов, выделенных из различных плодов содержащих пигменты антоцианы

**Заключение.** В работе были рассмотрены перспективные растительные источники для получения натуральных пищевых красителей с целью использования в пищевой промышленности. Получение амарантина из листьев краснолистного сорта Валентина селекции ВНИИССОК может найти применение в промышленной биотехнологии для создания универсального натурального пищевого красителя.

В настоящее время уже поучены устойчивые в хранении водно-спиртовые и кислотные экстракты из листьев растений амаранта сортов Валентина, Дон Педро; комбинированный пищевой краситель из амаранта Валентина, которые рекомендуются для создания универсального пищевого красителя, применимого в молочной и мясной промышленности [4]. При поддержке программы УМНИК «Фонда содействия развитию предприятий в научно-технической сфере» (полученного в рамках мероприятия «Московский молодежный старт 2015», договор о предоставлении гранта № 5941ГУ/2015 от 11 июня 2015 г.) был получен натуральный пищевой краситель из амаранта и выполнен НИР по теме «Разработка технологии нового натурального мясного продукта без использования синтетического красителя, сохраняющего свой естественный цвет и содержащего БАВ и антиоксиданты».

Результаты по определению антоцианов и антирадикальной способности выделенных экстрактов, полученных учеными Самарского университета, показали, что лидерами по показателям проведенного метода с применением DPPH радикала являются концентраты ежевичный, черной смородины, черничный, содержащие большое количество антоцианов [2].

В плодах опунции инжирной было обнаружено несколько функциональных соединений, обладающих антиокислительной активностью. По результатам оценки DPPH тестирования, проведенного французскими исследователями, фенольные соединения, флавоноиды и растительные пигменты выделенных экстрактов из плодов пурпурного цвета имели более высокие значения, чем у экстрактов, выделенных из плодов желто-оранжевой окраски [8]. Использование в пищевой промышленности нового нетрадиционного источника — опунции инжирной (*Opuntia ficus indica* L.) с целью выделения бетанина и получения красителя также имеет большие перспективы, поскольку этот вид также является источником функциональных соединений. Данная культура имеет перспективы для сельского хозяйства Крыма, так как является засухоустойчивой и обладает большим адаптационным потенциалом.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Гинс В.К., Гинс М.С., Торрес Миньо К.Х., Пивоваров В.Ф., Кононков П.Ф. Функциональные продукты питания из семян и листьев амаранта. М.: ВНИИССОК, 2015.
- [2] Макарова Н.В., Зюзина А.В. Исследование антиоксидантной активности по методу DPPH полуфабрикатов производства // *Техника и технология пищевых производств*. 2011. № 3. С 30—35.
- [3] Пивоваров В.Ф., Гинс В.К., Гинс М.С., Кононков П.Ф., Бунин М.С. Овощи как продукт функционального питания. М., 2008.
- [4] Платонова С.Ю., Гинс М.С. Обзор технологии получения концентратов и биопродукции во Франции // *Сборник статей V Международной научно-практической конференции преподавателей, молодых ученых, аспирантов и студентов. «Инновационные процессы в АПК»* М., 2014. С. 60—62.
- [5] Yashin A.Ya., Nemzer B.V., Combet E., Yashin Ya.I. Determination of the Chemical Composition of Tea by Chromatographic Methods: A Review. (submitted) *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2012. P. 1—38.

- [6] Galati E.M., Mondello M.R., Giuffrida D., Dugo G., Miceli N., Pergolizzi et Taviano M.F. Chemical characterisation and biological effects of sillician *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice: Antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2011. P. 4903—4908.
- [7] Hensley K., Floyd R.A. *Methods in pharmacology and toxicology: methods in biological oxidative stress*. Totowa: Humana Press, 2003.
- [8] Maataoui B.S. et Hilali S. Composition physico-chimique de jus de deux types de fruits de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) cultivés au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology*. 2012. 3(2): P. 8—13.
- [9] Ozkan M. Degradation of various fruit juice anthothyanins by hydrogen peroxide / M. Ozkan, A. Yemenicioğlu, Cemeroglu // *Food Res. Int.* 2005. Vol. 38. № 8—9. P. 1015—1021.

## PERSPECTIVE SOURCES OF NATURAL DYES FROM VEGETATIVE RAW MATERIAL

**M.S. Gins<sup>1,3</sup>, E.K. Platonova<sup>2</sup>,  
S.Yu. Platonova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Agrobiotechnologies Department  
Peoples' Friendship University of Russia  
*Miklukho-Maklaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198*

<sup>2</sup>Department of foreign languages  
Institute of agro-technology  
Peoples' Friendship University of Russia  
*Miklukho-Maklaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198*

<sup>3</sup>All-Russian State Institute of breeding and seed production of vegetable crops  
*FGBNU VNISSOK, Selekcionaya str., 14,  
District of Odintsovo, Moscow region, Russia, 143080*

One of the growing industrial purposes Fig *Opuntia* (lat. *Opuntia ficus-indica* L.) in Morocco is a natural dye. The antioxidant activity of the juices of prickly pear fruits has been evaluated, in vitro, by DPPH\* test. A comparative analysis of the antioxidant activity of the culture: Peach prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.), used in countries in Africa, Asia, Latin America, and which can be introduced in the arid regions of Russia, including the Republic of Crimea.

**Key words:** prickly pear, antioxidant activity, betanin, phenolic compounds.

### REFERENCES

- [1] Gins V.K., Gins M.S., Torres Minho C.J., Pivovarov V.F., Kononkov P.F. *Functional foods from the seeds and leaves of amaranth*. M.: Vniissok, 2015.
- [2] Makarova N.V., Zuzina A.B. Issledovanie antioksidantnoy aktivnosti po metodu DPPH polufabricatov proizvodstva. *Technique and technology of food production*. 2011. № 3. P. 30—35.
- [3] Pivovarov V.F., Gins V.K., Gins M.S., Kononkov P.F., Bunin M.C. *Vegetables as a functional food product*. M., 2008.
- [4] Platonova S.Yu., Gins M.S. *Technology of production of concentrates and byproducts in France. Innovative processes in agro-industrial complex*. Moscow, 2014. P. 60—62.

- [5] Yashin A.Ya., Nemzer B.V., Combet E., Yashin Ya.I. Determination of the Chemical Composition of Tea by Chromatographic Methods: A Review. (submitted) *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2012. P. 1—38.
- [6] Galati E.M., Mondello M.R., Giuffrida D., Dugo G., Miceli N., Pergolizzi et Taviano M.F. Chemical characterisation and biological effects of sillician *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice: Antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.* 2011. P. 4903—4908.
- [7] Hensley K., Floyd R.A. *Methods in pharmacology and toxicology: methods in biological oxidative stress*. Totowa: Humana Press, 2003.
- [8] Maataoui B.S. et Hilali S. Composition physico-chimique de jus de deux types de fruits de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) cultivés au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology*. 2012. 3(2): P. 8—13.
- [9] Ozkan M. Degradation of various fruit juice anthothyanins by hydrogen peroxide / M. Ozkan, A. Yemenicioğlu, Cemeroğlu. *Food Res. Int.* 2005. Vol. 38. № 8—9. P. 1015—1021.