

К ИЗУЧЕНИЮ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ПОКРОВНЫХ
ТКАНЕЙ ЯБЛОК

А. Г. САДОЯН

Методом тонкослойной хроматографии выявлены природные антиоксиданты из покровного воска яблок. Получены карты хроматографического распределения антиоксидантов, из которых идентифицирован α -токоферол. Выявлены их особенности у разных сортов яблок.

Ключевые слова: антиоксиданты, фарнезен, продукты окисления фарнезена.

При продолжительном хранении свежих плодов яблони в условиях пониженных температур возникают такие нежелательные явления, как физиологические расстройства тканей, вызванные условиями холодильного хранения. К числу таких физиологических заболеваний относится поверхностное побурение кожицы яблок, или, как его иначе называют, «загар». Согласно литературным данным, развитие «загара» на яблоках обусловлено образованием фарнезена и процессом его окисления. Однако фарнезен и продукты его окисления обнаруживались во всех исследованных сортах, в то время как «загар» отмечался лишь на некоторых [3]. Этот факт, с одной стороны, объясняется некоторыми особенностями терпеноидного обмена, с другой — содержанием антиоксидантов в кутикуле яблок. Первая сторона вопроса раскрыта в работах Морозовой и Сальковой [1—3]. Имеются также иностранные источники [5, 7].

Антиоксиданты в кутикуле яблок изучены недостаточно, а сведения об этих соединениях в кутикуле яблок Армении вообще отсутствуют. Известно, что в яблоках присутствуют многие фенольные соединения, обладающие антиоксидантной активностью. Некоторые из них, к примеру флаваны и антоцианы, определены, другие — оксикоричные кислоты, хлорогеновая кислота — были также и изолированы из яблок [8]. Однако эти соединения присутствуют исключительно в водной фазе и поэтому не оказывают значительного действия на самоокисление фарнезена. Процесс окисления фарнезена могут почавить только липидорастворимые антиоксиданты, содержащиеся в кутикуле яблок.

В задачу наших исследований входило изучение липидорастворимых антиоксидантов покровных тканей яблок.

Материал и методика. Объектом исследования служили яблоки сортов Банан зимний, Бельфлер желтый и Ренет Симиренко (Арабатская равнина, Армянская ССР), хранившиеся в холодильном помещении при температуре $0 \pm 1^\circ$ и относительной влажности $80 \div 90\%$.

Среднюю пробу (24 яблока) экстрагировали в 500 мл гексана, по 1 минуте каждый плод. С целью предотвращения кристаллизации восков и процессов окисления экстракт концентрировали при 50° в слабом токе азота до полного испарения гексана. Остаток обрабатывали теплым ацетоном (60 мл) для растворения воскового материала. Воск удаляли из ацетонового раствора путем кристаллизации в две стадии: основную массу осаждали при 0° в течение 15 мин, затем выдерживали 24 ч при температуре -20° и отфильтровывали через стеклянный фильтр. Свободный от воскового материала прозрачный ацетоновый раствор выпаривали при температуре $45-50^\circ$ в токе азота до испарения последней капли ацетона. Оставшуюся массу растворяли в $1 \div 2$ мл изookтана для изучения антиоксидантов методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Для получения четко выраженных пятен антиоксидантов оптимальной концентрацией является 0,025 мл изookтанового раствора. Изookтановый экстракт наносили на пластинку тонким слоем в виде пятна, отступая на 1,0 см от края. Элюирование проводили в системе растворителей хлороформ—бензол. Все операции производили возможно быстрее при приглушенном свете. Материал можно хранить не более 1 дня в ацетоновом растворе или в гексановом экстракте при низких температурах (-20°).

Полученные хроматограммы обрабатывали 5%-ным спиртовым раствором фосфомолибденовой кислоты (ФМК), просушивали в шкафу при температуре 80° в течение 5—10 мин и анализировали при дневном и ультрафиолетовом свете. Кроме того, нами испытан проявитель оцимен—2,4 динитрофенил—гидразин (2,4-ДНФГ) [6], который готовили следующим способом: реактив А—2%-ный раствор неочищенного β -оцимена в гексане очищали непосредственно перед использованием, путем пропускания через колонку с силикатом магнезия (флоризолом), 10 мм $\times$ 100 мм для 100 мл раствора; реактив В—2%-ный раствор 2,4-ДНФГ в 30%-ной хлорной кислоте.

Воздушно-сухую хроматограмму опрыскивали реактивом А (1 л/м^2), затем оставляли на 1 ч при комнатной температуре и опрыскивали реактивом В.

Реактив оцимен использовали для сравнения с фосфомолибденовой кислотой. С оцименом, в качестве проявителя, на желтом фоне проявлялись белые пятна антиоксидантов, которые быстро обесцвечивались. С реактивом ФМК проявлялись синие пятна на светло-голубом фоне (рис. 1). Оцимен является более чувствительным проявителем, так как он выявляет антиоксиданты, которые не отмечались при опрыскивании молибдатом. Однако большинство антиоксидантов проявляется равнозначно обоими реактивами, и, учитывая, что оцимен дефицитен, мы ограничились реактивом ФМК.

Результаты и обсуждение. Результаты опытов показали, что максимальное число антиоксидантов [27] проявилось в свежих плодах расположенного к заболеванию сорта Банан зимний (рис. 2); в сортах Бельфлер желтый и Ренет Симиренко их было соответственно 21 и 22. Причем 14 антиоксидантов из указанного количества выявлены нами во всех сортах яблок, сортовые различия носят количественный характер.

Остальные соединения в образцах присутствовали в зависимости от сорта яблок. К примеру, соединения 23, 24, 25, 27 обнаруживались только в яблоках сорта Банан зимний, 14, 15, 20—в сортах Банан зимний и Бельфлер желтый, а соединения 5, 21, 22, 26—Банан зимний и Ренет Симиренко.

Однако сортовые особенности антиоксидантов проявляются не только в их количественном составе, но и в расположении этих соединений на пластинке для ТСХ. Например, для яблок сорта Банан зим-

ний характерно близкое расположение антиоксидантов 15, 16, 17, напоминающее одно пятно (рис. 2). тогда как в сорте Ренет Симиренко антиоксидант 15 полностью отсутствует, а в Бельфлере желтом он проявляется на определенном расстоянии от антиоксидантов 16 и 17.

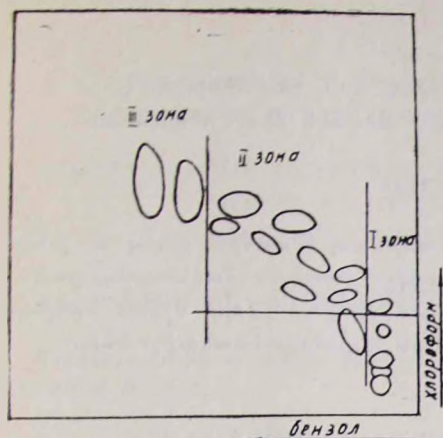


Рис. 1.

Рис. 1. Пластинка для ТСХ, проявленная реактивом ФМК.

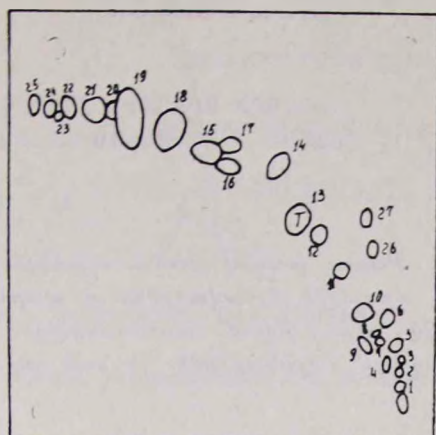


Рис. 2.

Рис. 2. Карта расположения антиоксидантов кутикулярного воска яблок сорта Банан зимний.

В зависимости от расположения антиоксидантов полученную хроматограмму можно разделить на 3 зоны (рис. 1). В первой зоне расположены антиоксиданты, которые разделились только при первом элюировании. Их немного, всего 3—4 слабо окрашенных пятна. Вторая—основная зона, где обнаруживается большая часть антиоксидантов. Это соединения, которые элюировались в двух направлениях и составляют основную часть антиоксидантов всех исследуемых сортов яблок; среди них—и β -токоферол. В третьей зоне обращают на себя внимание два выраженных пятна с интенсивно-синей окраской (соединения 18 и 19), а также соединения 21, 22, 23, 24 и 25, специфичные для сорта Банан зимний. Присутствие соединений 18 и 19 характерно для всех сортов яблок и, судя по окраске пятен, в более высоких концентрациях, чем другие. При опрыскивании реактивом ФМК эти соединения на хроматограммах приобретают темно-синюю окраску, тогда как остальные проявляются в виде светло-голубых пятен.

Кроме токоферола, который на хроматограммах обозначен буквой Т, природа остальных антиоксидантов еще не определена.

Изучение антиоксидантов еще только начинается. Нам известна лишь одна работа, в которой приводятся сведения об антиоксидантах из кутикулы яблок [4]. Наши исследования показали, что в покровных тканях исследованных нами сортов яблок также присутствуют антиоксиданты, выявляемые на ТСХ реактивами оцимен—2,4-ДНФГ и ФМК. Обнаружены сортовые особенности в составе антиоксидантов у разных сортов яблок и с помощью аутентичного α -токоферола идентифицирован токоферол.

Исследование антиоксидантов позволяет глубже понять природу «загара» и в дальнейшем биохимически обосновать методы защиты плодов от данного физиологического заболевания.

Институт виноградарства, виноделия и плодоводства
МСХ Армянской ССР

Поступило 30.VII 1981 г.

ԽԵՁՈՐԻ ԱՐՏԱՔԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱՄՔՆԵՐՈՒՄ ՊԱՐՈՒՆԱԿՎՈՂ
ԲՆԱԿԱՆ ՀԱԿԱՌՔՍԻԴԱՑՈՒՑԻՉՆԵՐԻ ՌԻՍԻՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Ա. Դ. ՍԱԴՈՅԱՆ

Բարակ խավով քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով ուսումնասիրվել են խնձորի արտաքին հյուսվածքներում պարունակվող բնական հակաօքսիդացուցիչները, որոնց թվում հայտնաբերվել է α -տոկոֆերոլը: Վերը նշված նյութերի կազմում հայտնաբերվել են նաև սորտային առանձնահատկություններ:

ON THE STUDY OF NATURAL ANTIOXYDANTS
OF SUPERFICIAL APPLE TISSUES

A. G. SADOYAN

By the method of thin-layer chromatography some natural antioxidants from superficial tissue of apples have been revealed. Among them tocopherol has been identified. Peculiarities of antioxidants of different apple varieties have been revealed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Морозова Н. П., Салькова Е. Г. Прикл. биохим. и микробиол., 9, 758, 1973.
2. Морозова Н. П., Салькова Е. Г., Крынкина О. В. Прикл. биохим. и микробиол., 12, 763, 1976.
3. Салькова Е. Г., Морозова Н. П., Утурашвили Э. А., Метлицкий Л. В. Прикл. биохим. и микробиол., 11, 888, 1975.
4. Anet E. F. J. J. Sci. Food Agric, 25, 3, 299, 1974.
5. Anet E. F. J. J. Sci. Food Agric, 23, 605, 1972.
6. Anet E. F. J. J. Chromatogr, 63, 2, 465, 1971.
7. Huelin F. E., Coggiola I. M. J. Sci. Food Agric, 21, 584, 1970.
8. Van Buren G. The Biochemistry of Fruits and Their Products. 1, 269, 1970.