

## СТАТЬИ

УДК 581.192.2:547.97:535.243.2

**ЧИСЛОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ  
КАРОТИНСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ РАСТЕНИЙ****Колдаев В.М.***Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии  
Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, e-mail: info@biosoil.ru*

Целью работы являлись сравнительные исследования спектрофотометрических числовых показателей поглощающих свойств каротиноидов в экстрактах из растительного сырья. В исследованиях использовали абсорбционные спектры спиртовых экстрактов из желто-оранжевых лепестков цветков 16 видов растений, корнеплодов моркови и раствора лютеина. Определяли числовые показатели спектров (ЧПС) коэффициенты относительных экстинкций максимумов и интенсивностей поглощения, а также доли поглощения триады каротиноида в общем поглощении, используя площади между горизонтальной осью и контуром спектрограммы в пределах абсцисс точек перегиба. Показано, что примененные ЧПС имеют статистически значимые межвидовые различия, корреляционные взаимосвязи с содержанием каротиноидов в растительных экстрактах и более высокую валидность по сравнению с известными традиционными спектрофотометрическими характеристиками каротиноидов. Оценка растительных экстрактов по ЧПС поглощения каротиноидов малотрудоемка и не требует дополнительных реактивов, кроме экстрагента. Представленные нетрадиционные спектрофотометрические ЧПС целесообразно использовать на практике как тесты в мониторинге состояния каротиноидов растений, контроле качества растительных препаратов. Лепестки подсолнечника по содержанию каротиноидов не уступают корнеплодам моркови, а также лепесткам цветков календулы и могут служить источниками сырья в производстве каротинсодержащих фитопрепаратов.

**Ключевые слова:** каротиноид, абсорбционный спектр, числовой показатель, интенсивность поглощения, фитопрепарат

**NUMERICAL INDICATORS OF ABSORPTION SPECTRACAROTINE-CONTAINING  
EXTRACTS FROM PLANTS****Koldaev V.M.***Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity,  
Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, e-mail: info@biosoil.ru*

The aim of the work was comparative studies of spectrophotometric numerical indicators of the absorbing properties of carotenoids in extracts from plant raw materials. The studies used absorption spectra of alcohol extracts from yellow-orange flower petals of 16 plant species, carrot root crops and lutein solution. The numerical indices of the spectra (NIS) were determined, the coefficients of the relative extinctions of the maxima and absorption intensities, as well as the proportion of the absorption of the carotenoid triad in the total absorption, using the area between the horizontal axis and the spectrogram contour within the abscissa of the inflection points. It was shown that the applied NIS have statistically significant interspecies differences, correlations with the content of carotenoids in plant extracts, and higher validity in comparison with the known traditional spectrophotometric characteristics of carotenoids. Evaluation of plant extracts by NIS of absorption of carotenoids is not laborious and does not require additional reagents, except for the extractant. The presented non-traditional spectrophotometric NIS are advisable to be used in practice as tests in monitoring the state of plant carotenoids, and in controlling the quality of herbal preparations. In terms of carotenoid content, sunflower petals are not inferior to carrots, as well as calendula flower petals, and can serve as sources of raw materials in the production of carotene-containing phytopreparations.

**Keywords:** carotenoid, absorption spectrum, numerical indicator, absorption intensity, phytopreparation

Каротиноиды составляют обширную группу из более чем 600 разновидностей оранжево-желтых пигментов. В природе каротиноиды синтезируются бактериями, микроводорослями, грибами и высшими растениями. Типичный каротиноид включает в основе тетратерпеновую цепочку из восьми изопреновых блоков. В зеленых растениях каротиноиды участвуют в перераспределении энергии света в антеннах фотосинтетического аппарата, а также, благодаря своим высоким антиоксидантным свойствам, защищают хлорофилл от активных форм кислорода и внешних фотонов избыточных энергий [1]. Млекопитающие не способны синтезировать

каротиноиды и вынуждены получать их извне с пищей для обеспечения своих жизненных процессов. Человеку требуется сравнительно небольшой набор различных каротиноидов. В частности, бета-каротин, ликопин и лютеин с зеаксантином необходимы для нормального функционирования зрения. Каротиноиды оказывают лечебное действие при патологических состояниях окислительного стресса, расстройствах сердечно-сосудистой и нервной систем, некоторых видах рака и других заболеваниях [2].

Исследования каротиноидов сосредоточены в основном на нескольких соединениях, участвующих в аспектах здоровья

человека или в процессах фотосинтеза растений [3]. Одним из основных методов исследования каротиноидов наряду с жидкостной хроматографией и масс-спектроскопией служит абсорбционная молекулярная спектрофотометрия [4]. Абсорбционный спектр каротиноида, как правило, включает три максимума поглощения в синей области оптического диапазона [5], так называемую «синюю триаду», что обусловлено электронно-колебательными переходами  $\pi$ -электронов двойных связей изопреновых блоков [6] и является характерным признаком каротиноида. Соответственно, в анализе каротиноидов традиционно используют длины волн максимумов поглощения и показатели тонкой структуры триад.

Однако числовые спектрофотометрические показатели абсорбции световой энергии каротиноидами мало разработаны, хотя вполне могут служить характеристиками при идентификации каротиноидов или в оценках состояния каротин-хлорофиллового комплекса фотосинтетической системы растений. Числовые показатели спектров (ЧПС) каротиноидов особенно мало представлены в спектрофотометрии экстрактов из растительного сырья,

числовых показателей каротинсодержащих экстрактов из растительного сырья.

#### Материалы и методы исследования

В работе использованы лепестки желто-оранжевых цветков растений 16 видов из разных семейств, корнеплоды моркови и для сравнения лютеин (РеалКапс, Россия). Цветки собирали в середине фазы цветения, корнеплоды в фазе увядания наземной части, из которых немедленно после сбора готовили экстракты в 95%-ном этаноле методом простой мацерации [7]. Абсорбционные спектры (АС) экстрактов регистрировали на спектрофотометре UV-2501PC (Shimadzu, Япония) в диапазоне 220–510 нм с шагом 1 нм, определяли длины волн и абсорбции спектральных максимумов, точки перегиба контура полосы поглощения по описанной ранее авторской методике [8].

Поскольку интегральная интенсивность поглощения численно равна площади между осью абсцисс и контуром полосы в заданных пределах, то эту площадь определяли по формуле Симпсона для численного интегрирования [9]. В качестве пределов интегрирования использовали абсциссы точек перегиба (точки  $b, c, d$  на рис. 1).

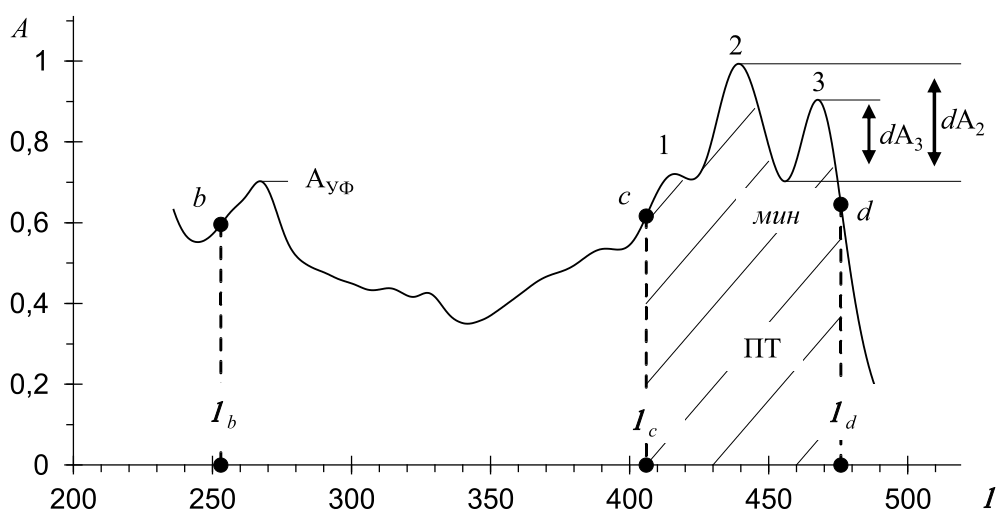


Рис. 1. АС спиртового экстракта из лепестков цветков лапчатки гусиной: 1, 2, 3 – номера максимумов синей триады, мин – минимум,  $dA_2, dA_3$  – превышения 2 и 3-го максимумов над минимумом,  $A_{уф}$  – абсорбция наибольшего максимума в УФ диапазоне,  $b, c, d$  – точки перегиба,  $\lambda_b, \lambda_c, \lambda_d$  – абсциссы точек перегиба, ПТ – площадь, соответствующая интенсивности поглощения триады. По горизонтали – длина волны  $\lambda$  в нм, по вертикали – абсорбция  $A$  в усл. ед.

хотя могли бы использоваться для тестирования его качества или при отборе перспективных видов растений для производства каротинсодержащих фитопрепаратов.

Целью работы явились сравнительные исследования спектрофотометрических

Например, в АС экстракта из цветков лапчатки гусиной площадь (ПТ) под контуром полосы на участке, ограниченном абсциссами  $\lambda_c$  и  $\lambda_d$  точек перегиба  $c$  и  $d$  (рис. 1, косая штриховка), соответствует интегральной интенсивности поглощения

триады. Площадь (П) под контуром полосы на участке в пределах абсцисс  $\lambda_b$  и  $\lambda_d$  точек  $b$ ,  $d$  перегиба соответствует общей интенсивности поглощения каротиноида в исследуемой полосе, а разность (ПУФ) указанных площадей

$$\text{ПУФ} = \text{П} - \text{ПТ}$$

численно равна интегральной интенсивности поглощения в УФ диапазоне.

Используя значения абсорбций и площадей, определяли следующие нетрадиционные ЧПС:

– абсорбционный коэффициент триады (КТ) как отношение абсорбций второго максимума триады ( $A_2$ ) и наибольшего максимума ( $A_{\text{УФ}}$ ) в УФ области полосы поглощения:

$$\text{КТ} = A_2/A_{\text{УФ}},$$

– долю (Д) интенсивности поглощения триады в общем поглощении:

$$\text{Д} = \text{ПТ}/\text{П},$$

– коэффициент относительной интенсивности поглощения триады (КОПТ) в видимой и УФ областях оптического диапазона:

$$\text{КОПТ} = \text{ПТ}/\text{ПУФ}.$$

Для сравнения определяли традиционные ЧПС – длины волн  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ,  $\lambda_3$  максимумов и показатель тонкой структуры (ПТС, в %) триад:

$$\text{ПТС} = 100dA_3/dA_2,$$

где  $dA_2$ ,  $dA_3$  – превышения 2 и 3-го максимумов над минимумом между ними (рис. 1).

Суммарное содержание каротиноидов в экстрактах определяли стандартно по бихромату калия [10]. От каждого вида растения брали по 5–6 рандомизированных проб в 14–16 час дня в сухую солнечную погоду. Результаты исследования обрабатывали статистически методами малой выборки и корреляционного анализа [11].

### Результаты исследования и их обсуждение

В видимой синей области оптического диапазона АС большинства исследованных экстрактов включают триаду максимумов (таблица), за исключением АС экстрактов из лепестков цветков калужницы болотной, осота огородного и календулы лекарственной, в АС которых первые или третий из максимумов триады редуцированы до ступенек (пример на рис. 2).

Характеристики абсорбционных спектров экстрактов из лепестков цветков, корнеплода моркови, раствора лютеина и содержание каротиноидов (СК, мг/100 г) в экстрактах

№ п/п	Наименование	Длина волны максимума триады			ПТС <sup>a</sup>	Числовой показатель поглощения			СК
		$\lambda_1$	$\lambda_2$	$\lambda_3$		КТ	Д	КОПТ	
1	Брокколи, <i>Фистеа</i> , <i>Brassica oleracea</i> Plenck.	416 ± 0,11	439 ± 0,11	468 ± 0,12	57,1 ± 4,8	0,35 ± 0,02	0,19 ± 0,01	0,25 ± 0,02	4,8 ± 0,3
2	Горчица сарептская, <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.	416 ± 0,13	439 ± 0,12	469 ± 0,11	72,1 ± 6,9	0,78 ± 0,06	0,34 ± 0,03	0,52 ± 0,04	8,8 ± 0,6
3	Девясил японский, <i>Inula japonica</i> Thunb.	423 ± 0,11	442 ± 0,11	467 ± 0,07	24,1 ± 2,2	0,49 ± 0,04	0,32 ± 0,03	0,47 ± 0,04	10,2 ± 0,8
4	Календула лекарственная, <i>Calendula officinalis</i> L.	422 ± 0,08	447 ± 0,1	–	–	0,62 ± 0,05	0,24 ± 0,02	0,31 ± 0,02	12,7 ± 0,8
5	Калужница болотная, <i>Caltha palustris</i> L.	–	443 ± 0,11	471 ± 0,12	43,9 ± 3,7	1,14 ± 0,9	0,38 ± 0,02	0,6 ± 0,05	11,6 ± 0,7
6	Лютик ползучий, <i>Ranunculus repens</i> L.	415 ± 0,12	437 ± 0,11	466 ± 0,12	47 ± 3,9	0,96 ± 0,08	0,35 ± 0,02	0,54 ± 0,04	10 ± 0,8
7	Недотрога обыкновенная, <i>Impatiens noli-tangere</i> L.	417 ± 0,11	439 ± 0,13	468 ± 0,12	55,3 ± 4,7	0,69 ± 0,06	0,28 ± 0,02	0,39 ± 0,03	9,6 ± 0,8
8	Огурец посевной, <i>Ерофея</i> , <i>Cucumis sativus</i> L.	420 ± 0,11	440 ± 0,09	469 ± 0,1	45,9 ± 4,1	0,38 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,3 ± 0,02	7,2 ± 0,5
9	Одуванчик лекарственный, <i>Taraxacum officinale</i> Wigg.	419 ± 0,08	441 ± 0,11	467 ± 0,1	40,3 ± 3,2	0,94 ± 0,08	0,32 ± 0,03	0,47 ± 0,04	10,6 ± 0,8
10	Осот огородный, <i>Sonchus oleraceus</i> L.	–	442 ± 0,12	467 ± 0,11	26,3 ± 1,98	1,52 ± 0,11	0,37 ± 0,03	0,58 ± 0,04	11,4 ± 0,8
11	Подсолнечник зерновой, <i>Орешек</i> , <i>Helianthus annuus</i> L. <sup>d</sup>	417 ± 0,11	439 ± 0,09	467 ± 0,12	71,6 ± 6,8	1,86 ± 0,14	0,51 ± 0,04	1,06 ± 0,11	16,4 ± 0,9
12	Репешок обыкновенный, <i>Agrimonia eupatoria</i> L.	418 ± 0,11	440 ± 0,11	469 ± 0,11	73 ± 7	0,33 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,3 ± 0,02	6,2 ± 0,4

Окончание таблицы									
№ п/п	Наименование	Длина волны максимума триады			ПТС <sup>а</sup>	Числовой показатель поглощения			СК
		$\lambda_1$	$\lambda_2$	$\lambda_3$		КТ	Д	КОПТ	
13	Рудбекия рассеченная, <i>Rudbeckia laciniata</i> × <i>hybrid</i> <sup>d</sup>	424 ± 0,12	445 ± 0,08	472 ± 0,1	24,5 ± 1,8	0,93 ± 0,07	0,52 ± 0,04	1,07 ± 0,11	14,8 ± 1,1
14	Томат обыкновенный, <i>Дебаро</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> L.	417 ± 0,11	440 ± 0,12	469 ± 0,09	64,3 ± 5,6	0,99 ± 0,08	0,38 ± 0,03	0,62 ± 0,06	11,8 ± 0,9
15	Топинамбур, <i>Helianthus tuberosus</i> L. <sup>d</sup>	422 ± 0,1	445 ± 0,11	472 ± 0,13	44,5 ± 3,2	0,93 ± 0,08	0,45 ± 0,03	0,83 ± 0,07	14,2 ± 1,2
16	Чистотел азиатский, <i>Chelidonium asiaticum</i> (Н. Нара) Krahulc.	420 ± 0,12	439 ± 0,11	469 ± 0,08	71,7 ± 6,5	0,55 ± 0,04	0,28 ± 0,01	0,39 ± 0,02	4,2 ± 0,3
17	Морковь, <i>Королева осени</i> , <i>Carota sativa</i> Rupr.	426 ± 0,1	448 ± 0,12	473 ± 0,1	16,1 ± 1,1	0,93 ± 0,08	0,55 ± 0,04	1,21 ± 0,11	17,2 ± 1,4
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$		419,6 ± 0,77	441,5 ± 0,76	468,8 ± 0,51	48,6 ± 4,75	0,85 ± 0,09	0,35 ± 0,02	0,58 ± 0,07	–
Коэффициент вариации (%)		0,73	0,69	0,51	37,88	45,88	28,57	48,27	–
Лютеин		424 ± 0,1	446 ± 0,11	473 ± 0,1	54,2 ± 4,9	2,99 ± 0,24	0,61 ± 0,05	1,58 ± 0,09	–

Примечание. <sup>а</sup> – показатель тонкой структуры, <sup>д</sup> – лепестки венчика.

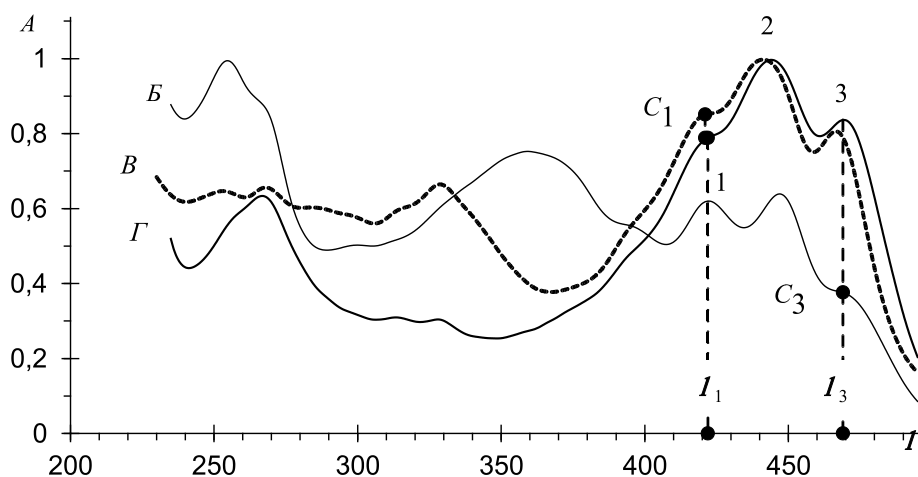


Рис. 2. АС этанольных экстрактов из лепестков цветков календулы лекарственной (Б), осота огородного (В) и калужницы болотной (Г).  $C_1, C_2, C_3$  – ступеньки. Остальные обозначения по рис. 1

Для традиционных числовых показателей АС получено, что первые максимумы триад совпадают на длинах волн 416, 422, 417 и 420 нм, вторые – на 439, 440 и 445 нм, третьи – на 467, 469, 473 и 472 нм. В целом для соответствующих максимумов триад найдено 5–7 различий по длинам волн из 17 исследованных АС. Нулевая гипотеза принимается, поскольку для ее опровержения (при заданном уровне значимости  $\alpha = 0,05$ ) согласно непараметрическим критериям для выборки объемом 17 элементов необходимо не менее 13 различий [11], следовательно, различия по длинам волн адек-

ватных максимумов триады в АС экстрактов для разных видов растений статистически незначимы ( $p > 0,05$ ). При этом отклонения длин волн максимумов триад от средних значений находятся в пределах 1,2–1,4%, а коэффициент вариации не превышает 1%. Таким образом, традиционные ЧПС длин волн максимумов поглощения триад имеют низкую валидность и, по-видимому, подходят только для предварительных оценок каротиноидов. Наряду с этим отклонения ПТС от среднего значения достигали 49,59–150,2%, а коэффициент вариации в 51,89–74,27 раз больше по сравнению с вариация-

ми длин волн, и можно сказать, что второй традиционный ЧПС каротиноидов из разных видов растений имеет статистически значимые межвидовые различиями и высокую валидность. В целом полученные результаты по традиционным ЧПС не противоречат литературным данным [4].

При определении нетрадиционных ЧПС наибольшие значения КТ в пределах 0,93–1,86 получены для АС экстрактов из лепестков венчика подсолнечника, топинамбура и корнеплодов моркови, а самые меньшие, в 5,31–5,64 раза, для лепестков цветков брокколи и репешка. При этом показатель КТ имел отклонения 38,83–218,82% от среднего значения при коэффициенте вариации 59,21%. Величина показателя КОПТ для моркови составила  $1,21 \pm 0,11$ , а для подсолнечника и топинамбура в 1,13–1,46 раза меньше. Размах отклонений КОПТ от среднего был в 1,17–1,33 раза ниже по сравнению с КТ, но статистически мало значим ( $p > 0,05$ ). Значения Д имели наибольшее значение  $0,55 \pm 0,04$  для АС экстрактов из моркови, подсолнечника и топинамбура, а самые меньшие – в 2,89 раза для брокколи.

Наибольшее содержание каротиноидов в пределах 12,7–17,2 мг/100 г сырой массы получено в корнеплодах моркови, лепестках подсолнечника, топинамбура и календулы, а в лепестках цветков других видов растений в 1,46–3,58 раза меньше. При этом выявлена тесная взаимосвязь нетрадиционных ЧПС с содержанием каротиноидов при коэффициентах корреляции 0,905–0,907 с высокой достоверностью ( $p < 0,001$ ).

Приведенные нетрадиционные ЧПС в спектрофотометрическом анализе каротинсодержащих экстрактов из растений использованы впервые, поэтому сопоставления интегральных интенсивностей поглощения с литературными данными исключаются. Можно только иметь в виду, что в растительном сырье присутствуют каротиноиды нескольких разновидностей, но обычно преобладает концентрация одного из них, чаще всего бета-каротин, который и определяет абсорбционные свойства экстракта [12]. Конечно, вещества «некаротиноидной» природы искажают АС каротинсодержащего экстракта. Безусловно, АС растительного экстракта отличается, иногда даже значительно, от АС очищенного каротиноида. Например, для АС лютеина (таблица) значения КТ в 3,11, КОПТ в 2,47 и Д в 1,69 раза превышают средние значения соответствующих показателей экстрактов из растительного материала.

В целом по вариациям, валидности и корреляционным связям использо-

ванные нетрадиционные ЧПС подходят для практического применения в оценках каротиноидов. По-видимому, для растительных экстрактов, где присутствует сумма каротиноидов, показатели АС на основе интегральных интенсивностей поглощения могут служить видовыми признаками растения, из которого приготовлен экстракт.

Можно заметить, что в традиционных ЧПС используется один параметр АС – или длина волны максимума триады, или же превышение абсорбции (как при вычислении ПТС). В отличие от этого нетрадиционные ЧПС основаны на площадях полос поглощения, которые, как известно, представляют собой произведения абсорбций (высот) и шага длины волны (основания), т.е. включают два параметра. Очевидно, высокая валидность, размах значений от вида к виду, межвидовая специфичность использованных нетрадиционных ЧПС обусловлены именно таким обобщенным подходом, учитывающим и длину волны, и абсорбцию. К тому же площади для спектрофотометрии удобны еще и тем, что их несложно представить в энергетических единицах, например в эВ (если это необходимо для анализа), заменив длины волн полос поглощения на энергии соответствующих квантов.

### Заключение

Разработанный способ оценок каротиноидов растительных экстрактов по ЧПС не очень трудоемок по сравнению, скажем, с масс-спектроскопией или жидкостной хроматографией, не требует дополнительных реактивов, кроме экстрагента, что немаловажно в полевой практике, и достаточно точен. Описанные нетрадиционные ЧПС можно использовать на практике в качестве спектрофотометрических тестов в мониторинге состояния каротиноидов растений, контроле и стандартизации растительных препаратов.

Лепестки венчика подсолнечника зернового по содержанию каротиноидов не уступают корнеплодам моркови и лепесткам цветков календулы и могут служить сырьем для каротинсодержащих фитопрепаратов, но в фармацевтической промышленности не используются. По-видимому, здесь требуется специальная технология, однако ее разработка выходит за рамки заявленной тематики проведенного исследования.

### Список литературы

1. Хелдт Г.-В. Биохимия растений. М.: Бином, 2011. 471 с.

2. Eggersdorfer M., Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health. Archives of biochemistry and biophysics. 2018. Vol. 652. P. 18–26.
3. Young A.J., Lowe G.L. Carotenoids – antioxidant properties. Antioxidants. 2018. Vol. 7. No. 2. P. 28–36.
4. Курегян А.Г. Спектрофотометрия в анализе каротиноидов // Фундаментальные исследования. 2015. № 2. С. 5166–5172.
5. Araki G., Murai T. Molecular structure and absorption spectra of carotenoids. Progress of theoretical physics. 1952. Vol. 8. No. 6. P. 639–654.
6. Monego D.L., Rosa M.B., Nascimento P.C. Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids. Food chemistry. 2017. Vol. 217. P. 37–44.
7. Государственная фармакопея СССР. Издание XI. Выпуск 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. М.: Медицина, 1990. 360 с.
8. Колдаев В.М. Числовые показатели спектров поглощения извлечений из листьев растений Приморья. Владивосток: Дальнаука, 2018. 120 с.
9. Composite Simpson's rule. [Электронный ресурс]. URL: [https://en.m.wikipedia.org/wiki/simpson's\\_27s\\_rule](https://en.m.wikipedia.org/wiki/simpson's_27s_rule) (дата обращения: 18.01.2021).
10. Benea A., Ciobanu C., Cojocaru-Toma M., Ciobanu N. Determination of carotenoids in extracts from species of Tagetes and Calendula. Moldova medical journal. 2020. Vol. 63. No. 4. P. 23–26.
11. Колдаев В.М., Кропотов А.В. Основные приемы статистики в медико-биологических исследованиях. Владивосток: Медицина ДВ, 2019, 104 с.
12. Дейнека В.И., Гостищев И.А., Третьяков М.Ю., Индина И.В. Каротиноиды лепестков цветков календулы // Научные ведомости БелГУ. Естественные науки. 2011. Т. 15. № 9–2 (104). С. 277–285.